



Ana Lúcia Rodrigues Fouto

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

Análise de Imagens Cerebrais de Ressonância Magnética com Ponderação em Difusão na Doença dos Pequenos Vasos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientadora: Prof. Patrícia Margarida Piedade Figueiredo, Professora Auxiliar, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa

Co-orientadora: Prof. Rita Gouveia Nunes, Professora Auxiliar, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa

Júri

Presidente: Prof. Doutor José Luís Ferreira
Arguente: Prof. Doutora Carla Quintão Pereira
Vogal: Prof. Doutora Patrícia Figueiredo



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro, 2017

Análise de Imagens Cerebrais de Ressonância Magnética com Ponderação em Difusão na Doença dos Pequenos Vasos

Copyright © Ana Lúcia Rodrigues Fouto, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Learning became an addiction back in my first year of school in 2000. This journey has been a tremendous challenge but I'll keep watering my knowlegde flower even if it is raining.



Ana Fouto 2017

Agradecimentos

Nesta página pretendo deixar os meus mais francos e sinceros agradecimentos aos que durante os últimos 5 anos contribuíram prontamente para a concretização desta etapa académica.

Em primeiro lugar, endereço uma palavra de agradecimento à minha orientadora Prof. Patrícia Figueiredo pela oportunidade em trabalhar no seu laboratório, e mais ainda pela paixão contagiante demonstrada em entender os mistérios do cérebro, bem como pela disponibilidade constante e pelo interesse crítico sempre que lhe apresentava novos resultados. À minha co-orientadora Prof. Rita Nunes agradeço o sorriso sempre pronto para me receber quando lhe trazia dúvidas novas e pelo entusiasmo e segurança que transmite a qualquer investigação. À restante equipa do Laseeb reconheço com estima todo o apoio e o acolhimento desde o primeiro dia, e em particular, a aluna de Doutoramento Joana Pinto que me acolheu ao abrigo do seu projeto e sempre que necessário não se negou a ajudar. Ainda dentro das paredes do Laseeb, não posso deixar de mencionar a amizade criada com a minha colega Carmo Moser, por toda a partilha de frustrações e opiniões sobre o que fazer a seguir, e à qual desejo a maior sorte para o que se segue.

Em segundo lugar, recuando ao início do ano letivo de 2012/2013 não posso deixar de reconhecer o grupo ímpar de colegas com quem tive a oportunidade de crescer e aprender, e mais do que isso contribuíram para que a faculdade tivesse um sabor a casa. Contudo, primeiramente, menciono a minha amiga Cristina Palma por ser a primeira a desconfiar de qualquer teoria que lhe apresentasse, abrindo sempre espaço para o debate de ideias que terminava sempre com um “concordo”. À minha amiga Inês Barros por estar sempre presente quando era necessário fugir da realidade. À minha amiga Margarida Silva, deixo o apreço pela sua companhia e, por ser um exemplo de determinação. Não posso ficar em dívida para com o meu amigo Gonçalo Costa agradeço-lhe sobretudo pelos conselhos que me deu mantendo sempre a sua postura de pés bem assentes na razão. Por último, endereço destaque à minha amiga Mariana Cândido por ser obstinada nos seus objetivos, mas saber parar para me ouvir quando necessário. Não me podendo alongar mais em agradecimentos aos amigos listo ainda os seguintes nomes: Pedro Costa, Alexandra Martins, Bernardo Crastes, Bilena, Daniela Godinho, David Melo, Gonçalo Luís, Joana Grilo, Miguel Batista, Paula Martins, Ricardo Matos, Sara Dias e Tiago Mateus. Que a resposta

a reuniões deste grupo de amigos seja sempre “porque não?”. Para terminar, uma nota de agradecimento ainda aos amigos que já vinham do meu percurso de formação de base: Margarida Pinto e António Carrilho.

Em terceiro lugar, relembro todos os professores que amavelmente transmitiram os seus conhecimentos, um destaque particular para o Prof. Cláudio Fernandes e Prof. Elvira Coimbra.

Por fim, mais do que um agradecimento é uma declaração de gratidão eterna ao meu núcleo familiar mais próximo que não só foram essenciais para a construção da minha personalidade, mas que potenciaram todas as condições necessárias para que pudesse ir sempre mais além, e me suportaram sempre que o caminho aparentemente mais fácil era desistir. Em especial, louvo o esforço dos meus pais e, termino com um enaltecimento à melhor pessoa que conheço neste mundo, a minha avó, que nunca aprendendo a ler nem escrever, sabe valorizar melhor do que ninguém o que a entrega deste documento representa.

Resumo

A demência é uma preocupação a nível global que afeta sobretudo idosos. A doença dos pequenos vasos (SVD) cerebrais é considerada a segunda maior causa de demência e a principal causa de disfunções cognitivas vasculares. SVD refere-se às características da neuroimagem que se consideram relacionadas com as lesões dos pequenos vasos. Apesar de várias técnicas de imagem por ressonância magnética (MRI) terem permitido identificar lesões estruturais em estágios avançados da doença, ainda há necessidade de encontrar biomarcadores da SVD mais sensíveis que permitam um diagnóstico precoce bem como a monitorização da progressão da doença. As imagens ponderadas em difusão (DWI) já demonstraram sensibilidade para detetar alterações microestruturais em casos esporádicos de SVD (sSVD) e também em formas hereditárias da doença (CADASIL). O objetivo desta tese foi explorar o potencial da DWI para providenciar biomarcadores imagiológicos da SVD por comparação direta entre os dois tipos da doença e respetivos controlos saudáveis. Após pré-processamento das imagens de DWI para a correcção de artefactos, foi aplicado o método de estatísticas espaciais baseadas em tractos para a comparação *voxel-a-voxel* entre grupos. Esta análise revelou áreas de redução de anisotropia fraccional (FA) e aumento da difusibilidade média (MD) nos grupos de doentes quando comparados com os controlos saudáveis. Foram depois extraídas várias métricas dos histogramas dos mapas de FA e MD e investigado o seu poder explicativo dos défices cognitivos comparativamente com outros marcadores imagiológicos. As regressões lineares múltiplas revelaram que métricas como a mediana, altura do pico e largura de FA e MD se correlacionavam com a função executiva, a velocidade de processamento, atenção e memória. Os resultados são sugestivos do grande potencial da DWI para providenciar biomarcadores imagiológicos da SVD sensíveis aos défices cognitivos.

Palavras-chave: Doença dos pequenos vasos; Imagem ponderada em difusão; CADASIL; SVD esporádica; TBSS

Abstract

Dementia is a global concern that affects mainly elderly people. The cerebral small vessel disease (SVD) is considered the second major cause of dementia and the main cause of vascular cognitive impairment. SVD refers to the neuroimaging findings considered to be related with injuries in the small vessels. Even though several Magnetic Resonance Imaging (MRI) techniques have allowed to identify structural lesions at advance stages of the disease there is still the need to find more sensitive SVD biomarkers that will allow an early diagnosis as well as monitoring the disease progression. Diffusion-Weighted Images (DWI) have already shown to be sensitive to microstructural changes in patients with sporadic SVD (sSVD) and also in inherited forms of the disease (CADASIL). The aim of this thesis was exploring the potential of DWI to provide sensitive biomarkers of SVD by comparing directly the two types of the disease and their respective healthy controls. After pre-processing the DWI images for the artifacts correction, a tract-based spatial statistics method was applied for voxelwise group comparisons. This analysis revealed both, regions of reduction of fractional anisotropy (FA) and increase of mean diffusivity (MD) when compared with healthy controls. Multiple linear regressions revealed that metrics as median, peak height and width of FA and MD were correlated with executive function, processing speed, attention and memory. These results are suggestive of the great potential of DWI to provide SVD sensitive imaging biomarkers to cognitive deficits.

Keywords: Small Vessel Disease; Diffusion-Weighted Images; CADASIL, Sporadic SVD

Índice

Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xxi
Siglas	xxiii
1 Introdução	1
1.1 A demência e as doenças cerebrovasculares	2
1.2 Contextualização do problema	2
1.3 Motivação	3
1.4 Objetivos	3
1.5 Estrutura da Tese	3
2 Doença dos Pequenos Vasos	5
2.1 Definição e Classificação	6
2.2 Subtipos de SVD	7
2.2.1 CADASIL	7
2.2.2 SVD esporádica	8
2.3 Características e patogénese da SVD	8
2.4 Métodos de tratamento da SVD	9
2.5 Métodos de diagnóstico da SVD através de neuroimagem	10
3 Imagem Ponderada em Difusão	13
3.1 O que é a difusão?	14
3.2 Representação física da difusão	14
3.3 Difusão e a microestrutura dos tecidos	15
3.4 Como se forma a imagem ponderada em difusão?	16
3.5 Tensor de difusão	20
3.6 Parâmetros quantitativos da difusão	22
3.7 Principais artefactos em imagens de difusão	22
3.8 Aspectos metodológicos do processamento de imagens de difusão	25
3.8.1 Artefactos e protocolos de aquisição	26
3.8.2 Controlo de qualidade e processamento	26

3.8.3	Análise quantitativa	27
4	Estado da Arte	29
4.1	Difusão como indicador de alterações microestruturais	30
4.2	Difusão e os biomarcadores de MRI convencionais em SVD	30
4.3	Correlação da difusão com o estado cognitivo em SVD	30
4.4	Abordagem Proposta	35
5	Materiais e Métodos	37
5.1	População em estudo	38
5.2	Testes Neuropsicológicos	39
5.3	Protocolo de aquisição de dados	40
5.4	Processamento das imagens ponderadas em T1 e T2	41
5.4.1	Imagem ponderada em T1	41
5.4.2	Imagem ponderada em T2	41
5.5	Processamento das imagens ponderadas em difusão	42
5.5.1	Controlo de qualidade	44
5.5.2	Correção de distorções geométricas e artefactos	50
5.5.3	Ajuste do tensor de difusão	57
5.5.4	Projeção do esqueleto	58
5.5.4.1	Registo das imagens	59
5.5.4.2	Esqueleto de FA e MD	61
5.6	Análise estatística	62
5.6.1	Análise cerebral global voxel a voxel: comparação entre grupos . .	62
5.6.2	Análise de métricas univariadas: relação com outras variáveis nos grupos de doentes	63
5.6.2.1	Histogramas de FA e MD	63
5.6.2.2	Extração das métricas dos histogramas	63
5.6.2.3	Análise estatística das métricas	65
6	Resultados	67
6.1	Análise global: comparação entre grupos	68
6.1.1	FA	68
6.1.2	MD	69
6.2	Análise de métricas univariadas: relação com outras variáveis nos grupos de doentes	79
7	Sumário dos resultados e sua relação com a literatura	89
8	Conclusões e Perspetivas Futuras	97
8.1	Limitações do estudo	98
8.2	Perspetivas futuras	100

Referências	101
A Apêndice A	113
B Apêndice B	115

Lista de Figuras

2.1	Representação do calibre das artérias, arteríolas e capilares envolvidos em SVD, em escala logarítmica	6
2.2	Principais manifestações clínicas em CADASIL.	7
2.3	Patogénese dos danos cerebrais como resultado da SVD.	9
2.4	Características da SVD em neuroimagem estrutural convencional	10
3.1	Representação ilustrativa do processo natural de difusão	14
3.2	Representação física da difusão	15
3.3	Analogia representativa do processo de difusão em meio biológico simplificado	16
3.4	Sequência para aquisição de DWI	17
3.5	Perda de coerência de fase de um spin individual em difusão	18
3.6	Efeito de mudar a direção de aplicação do gradiente de difusão na intensidade da ponderação em difusão	20
3.7	Tensor de difusão de acordo com o grau de anisotropia do meio	21
3.8	Representação gráfica do conjunto de configurações de difusão	22
3.9	Distorções geométricas resultantes de artefactos de correntes parasitas	23
3.10	Exemplo de imagens com artefactos típicos de movimento	24
3.11	Diagrama ilustrativo das etapas típicas de processamento de DWI	25
3.12	Métodos de análise quantitativa de mapas paramétricos de DTI	28
5.1	Sequência de processamento composta por 3 fases que foi implementada neste estudo.	43
5.2	Exemplo ilustrativo da qualidade das imagens	44
5.3	Direção de aquisição dos gradientes adquiridos na sequência DWI	45
5.4	Comparação da performance das ferramentas RESTORE e <i>dtifit</i> na estimativa do mapa de FA	49
5.5	Exemplo ilustrativo da correção da ferramenta <i>eddy_repol</i>	49
5.6	Esquema ilustrativo da <i>pipeline</i> seguida pelo tutorial do FSL	50
5.7	Imagens DWI representativas das distorções de susceptibilidade	51
5.8	Na imagem DWI identificam-se pequenas regiões com distorção que apenas são identificáveis ao adquirir duas imagens com codificação de fase oposta .	52
5.9	Esquema ilustrativo da implementação da função <i>Topup</i>	52

5.10	Efeitos da correção de distorções das 2 ferramentas testadas (<i>eddy</i> e <i>topup</i> + <i>eddy</i>) em comparação com a imagem sem correções.	53
5.11	Esquema ilustrativo dos passos de cada iteração do algoritmo de correção . .	55
5.12	Conjunto de entradas fornecidas à função <i>eddy</i> e respectivas saídas	57
5.13	Conjunto de entradas fornecidas à função <i>dtifit</i> e respectivas saídas	58
5.14	Conjunto de transformações implementadas no processo de registo de imagens	59
5.15	Resultados do registo não linear com o programa <i>Ants</i>	60
5.16	Registos dos mapas de FA para o espaço MNI	60
5.17	Exemplo da sobreposição da média de FA com um esqueleto de FA médio no espaço MNI	61
5.18	Extração de métricas do histograma (sujeito com CADASIL)	64
5.19	Ilustração da construção do modelo de análise de variância com medidas repetidas através do programa JASP	65
6.1	Análise do esqueleto de FA comparativa entre o grupo de indivíduos saudáveis e o grupo de doentes com sSVD	70
6.2	Análise do esqueleto de FA comparativa entre o grupo de indivíduos saudáveis e o grupo de doentes com CADASIL	71
6.3	Análise do esqueleto de FA comparativa entre o grupo de doentes com sSVD e o grupo de doentes com CADASIL	72
6.4	Análise do esqueleto de MD comparativa entre o grupo de doentes com CADASIL e o grupo de controlo	73
6.5	Análise do esqueleto de MD comparativa entre o grupo de doentes com CADASIL e o grupo de doentes com sSVD	74
6.6	Efeito positivo da idade nas alterações de MD	75
6.7	Gráfico representativo da percentagem de sobreposição entre zonas dos esqueletos com e sem diferenças significativas e zonas de lesões com WMH . .	76
6.8	Sobreposição do esqueleto de FA com diferenças significativas entre grupos e a máscara das lesões de WMH	77
6.9	Sobreposição do esqueleto de MD com diferenças significativas entre grupos e a máscara das lesões de WMH	78
6.10	Distribuição das métricas de FA calculadas para cada máscara (TBSS, WM, NAWM e WMH) e para os 3 grupos de estudo (Controlo, sSVD e CADASIL) .	79
6.11	Distribuição das métricas de FA e MD calculadas para cada máscara (TBSS, WM, NAWM e WMH) e para os 3 grupos de estudo (Controlo, sSVD e CADASIL)	80
6.12	Distribuição das métricas de FA e MD calculadas para cada máscara (TBSS, WM, NAWM e WMH) e para os 3 grupos de estudo (Controlo, sSVD e CADASIL)	81
6.13	Qualidade do ajuste dos modelos de regressão <i>stepwise</i> quantificada através do coeficiente de determinação ajustado (R^2 ajustado) para as 4 máscaras consideradas (TBSS, WM, NAWM e WMH) na explicação dos 4 domínios cognitivos avaliados	87

B.1	Extração de métricas dos histogramas de FA	116
B.2	Extração de métricas dos histogramas de MD	117

Lista de Tabelas

2.1	Classificação em subtipos da doença dos pequenos vasos	6
3.1	Valores típicos para o ADC nos tecidos do cérebro humano	19
3.2	Etapas sugeridas para o controlo de qualidade das imagens	26
4.1	Principais correlações encontradas entre as métricas de DWI e DTI e os marcadores convencionais de MRI em SVD	30
4.2	Principais investigações sobre a associação entre o estado cognitivo e as variações das métricas de DTI em doentes com sSVD - parte I	32
4.3	Principais investigações sobre a associação entre o estado cognitivo e as variações das métricas de DTI em doentes com sSVD e CADASIL - parte II	33
4.4	Principais investigações sobre a associação entre o estado cognitivo e as variações das métricas de DTI em doentes com CADASIL - parte III	34
5.1	Características demográficas dos diferentes grupos	38
5.2	Listagem do testes neuropsicológicos selecionados como representativos dos diversos domínios cognitivos	39
5.3	Lista da sequências adquiridas no âmbito do projeto <i>Neurophysim</i>	40
5.4	Principais parâmetros de aquisição da sequência DWI	40
5.5	Desvantagens encontradas nos programas <i>DTIPrep</i> e <i>RESTORE</i> de acordo com as experiências executadas	48
6.1	Resultados do modelo de regressão linear múltipla com as métricas extraídas a partir dos histogramas do esqueleto de FA e MD (TBSS)	83
6.2	Resultados do modelo de regressão linear múltipla com as métricas extraídas a partir dos histogramas de FA e MD (WM)	84
6.3	Resultados do modelo de regressão linear múltipla com as métricas extraídas a partir dos histogramas de FA e MD (NAWM)	85
6.4	Resultados do modelo de regressão linear múltipla com as métricas extraídas a partir dos histogramas de FA e MD (WMH)	86
A.1	Dados relativos à idade, género, grupo e direção de codificação de fase da sequência DWI para cada sujeito	114

Siglas

ADC	Coeficiente de difusão aparente (do inglês, <i>Apparent diffusion coefficient</i>).
AIC	<i>Akaike Information Criterion</i> .
ANOVA	Análise de variância (do inglês, <i>Analysis of Variance</i>).
AVCs	Acidentes Vasculares Cerebrais.
CAA	Angiopatia cerebral amilóide (do inglês, <i>Cerebral amyloid angiopathy</i>).
CADASIL	Arteriopatia cerebral autossômica dominante com enfartes subcorticais e leucoencefalopatia (do inglês, <i>Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical ischaemic strokes and leukoencephalopathy</i>).
CSF	Líquido cefalorraquidiano (do inglês, <i>Cerebrospinal fluid</i>).
DTI	Imagem por Tensor de Difusão (do inglês, <i>Diffusion Tensor Imaging</i>).
DWI	Imagens com ponderação em difusão (do inglês, <i>Diffusion-Weighted Imaging</i>).
EPI	Imagem Eco-Planar (do inglês, <i>Echo Planar Imaging</i>).
FA	Anisotropia Fraccional (do inglês, <i>Fractional Anisotropy</i>).
FLAIR	<i>Fluid-Attenuated Inversion Recovery</i> .
FSL	<i>FMRIB Software Library</i> .
Glm	Modelo linear geral (do inglês, <i>General Linear Model</i>).
GM	Substância Cinzenta (do inglês, <i>Gray Matter</i>).
LADIS	<i>Leukoaraiosis and Disability</i> .
MD	Difusibilidade Média (do inglês, <i>Mean Diffusivity</i>).
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i> .
MPRAGE	<i>Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo</i> .

MRI	Imagem por Ressonância Magnética (do inglês, <i>Magnetic Resonance Imaging</i>).
NAWM	Substância branca aparentemente normal (do inglês, <i>Normal appearing white matter</i>).
nBV	Volume cerebral normalizado (do inglês, <i>Normalized brain volume</i>).
NMR	Espetroscopia de ressonância magnética nuclear (do inglês, <i>Nuclear magnetic resonance spectroscopy</i>).
NOTCH3	<i>Notch homolog 3</i> .
nWMHLL	Carga lesional normalizada das hiperintensidade da substância branca (do inglês, <i>Normalized White Matter hyperintensities Lesion Load</i>).
RF	Radiofrequência.
ROI	Região de interesse (do inglês, <i>Region of interest</i>).
RUN DMC	<i>Radboud University Nijmegen Diffusion Tensor and Magnetic Resonance Cohort</i> .
SNR	Relação sinal-ruído (do inglês, <i>Signal-to-Noise Ratio</i>).
sSVD	Doença dos pequenos vasos esporádica (do inglês, <i>Sporadic Small Vessel Disease</i>).
SVD	Doença dos Pequenos Vasos (do inglês, <i>Small Vessel Disease</i>).
T1WI	Imagens ponderadas em T1 (do inglês, <i>T1-Weighted Image</i>).
T2WI	Imagens ponderadas em T2 (do inglês, <i>T2-Weighted Image</i>).
TBSS	Estatísticas espaciais baseadas em tractos (do inglês, <i>Tract-Based Spatial Statistics</i>).
TE	Tempo de eco.
VCI	Disfunções Cognitivas Vasculares (do inglês, <i>Vascular Cognitive Impairment</i>).
WM	Substância Branca (do inglês, <i>White Matter</i>).
WMH	Hiperintensidades da substância branca (do inglês, <i>White matter hyperintensities</i>).

1 | Introdução

O termo doença dos pequenos vasos (do inglês, Small Vessel Disease, SVD) cerebrais designa um tipo de doença cerebrovascular e define as características imagiológicas que traduzem inerentemente patologias nas arteríolas cerebrais, capilares e vénulas [1]. Considerando ainda os desafios e dificuldades associados ao diagnóstico da SVD, bem como a necessidade de monitorização da progressão da doença e da sua resposta à terapia. Nesta tese propôs-se explorar o potencial de técnicas avançadas de Ressonância Magnética, mais concretamente, a imagem ponderada em difusão (do inglês, Diffusion-Weighted Images, DWI), para obter biomarcadores imagiológicos da doença.

Este capítulo pretende enquadrar o leitor no tema desenvolvido. Inicialmente, esclarece-se a relação entre os conceitos de demência e doenças cerebrovasculares, bem como é apresentada uma motivação estatística do impacto socio-económico associado (Secção 1.1). Posteriormente, os principais problemas relacionados com o diagnóstico da SVD são expostos (Secção 1.2). Na secção 1.3, são mencionados os principais pontos de suporte e motivação ao desenvolvimento do tema, apresentando-se de seguida os objetivos desta tese (Secção 1.4). Por fim, as linhas estruturais implementadas na concepção deste trabalho escrito são resumidas e expostas ao leitor (Secção 1.5).

1.1 A demência e as doenças cerebrovasculares

A demência define o declínio das capacidades cognitivas de um indivíduo interferindo no seu desempenho e autonomia na rotina diária [2]. Assume-se uma preocupação crescente a nível mundial com esta patologia que afeta cerca de 35 milhões de pessoas e tem um impacto económico estimado acima dos \$604 biliões USD [3]. O registo de uma população cada vez mais envelhecida faz prever que o número de pessoas afetadas duplique em duas décadas e o impacto económico aumente cerca de 85% [3]. Como segunda maior causa de demência surgem as doenças cerebrovasculares a seguir ao Alzheimer [4]. As doenças cerebrovasculares representam o conjunto de disfunções cerebrais resultantes de quadros clínicos em que o normal fluxo de sangue no cérebro é comprometido [5]. O termo disfunções cognitivas vasculares (do inglês, *Vascular Cognitive Impairment*, VCI) é referente a qualquer declínio cognitivo secundário a uma doença cerebrovascular, tendo como principais causas: (1) Acidentes Vasculares Cerebrais (AVCs) em grandes vasos, (2) SVD e (3) microhemorragias [1, 6].

1.2 Contextualização do problema

Inicialmente, a maioria dos estudos imagiológicos com base em técnicas de imagem por ressonância magnética (do inglês, *Magnetic Resonance Imaging*, MRI) focaram-se nas patologias dos grandes vasos dada a relativa facilidade com que estes são diretamente avaliados e que se acompanha a sua evolução neuropatológica. Com o avanço e a disponibilidade de novas modalidades de neuroimagem tem sido cada vez mais evidente o papel da SVD na patogénese de VCI [1]. Contudo, os mecanismos patológicos subjacentes à demência associada à SVD permanecem ainda pouco claros dado que é difícil investigar e visualizar os pequenos vasos *in vivo*. Além disso, a avaliação dos pequenos vasos através da imagem é limitada pelas suas dimensões e dificultada pela grande diversidade de manifestações clínicas da doença [7]. À parte da falta de conhecimento sobre o processo patológico da SVD identificam-se dois problemas na base do seu diagnóstico através da neuroimagem: (1) a ausência de consenso na comunidade científica quanto ao grau de SVD que é necessário estar presente na MRI para que a doença seja aceite como causa de demência e (2) a inexistência de biomarcadores de confiança ainda não permite excluir a doença de Alzheimer como principal causa de demência [8]. O termo SVD cerebral é usado indiscriminadamente para descrever tanto as lesões subjacentes à doença como a correlação entre a neuroimagem e os seus efeitos no parênquima cerebral [9]. As lesões cerebrais identificadas a partir da MRI podem ser correlacionadas com marcadores clínicos do estado cognitivo dos indivíduos e revelar pistas de como estes processos nos pequenos vasos resultam em doença. No entanto, apesar dos estudos já desenvolvidos nesta área ainda se impõe a procura de um biomarcador imagiológico que reúna em si características como: (1) seja fiável; (2) reflita o grau de SVD presente; (3) seja fácil de implementar em ensaios e rotina clínica, (4) seja aplicável a um grande número de sujeitos e (5) apresente uma correlação com os défices cognitivos observados [10].

1.3 Motivação

A motivação subjacente à utilização da DWI para a obtenção de biomarcadores da SVD é o facto de ser uma técnica sensível ao processo natural de difusão das moléculas de água. Assim, é possível quantificar alterações microestruturais dos tecidos, que poderão não ser detetáveis em outras modalidades de MRI. Estudos prévios sugerem que o padrão de alteração da difusão na SVD caracteriza-se por uma redução da anisotropia fraccional (do inglês, *Fractional Anisotropy*, FA) e um aumento da difusibilidade média (do inglês, *Mean Diffusivity*, MD) na substância branca (do inglês, *White Matter*, WM) [10]. Contudo, existe ainda um grande potencial inexplorado desta técnica que pode contribuir para a melhor compreensão dos fenómenos patológicos inerentes à SVD. Além disso, as investigações científicas já desenvolvidas reconhecem frequentemente a importante contribuição vascular para a neurodegenerescência e demência. Um forte indício da associação entre a demência e as causas vasculares é que a doença não se expandiu em termos estatísticos como previsto. Possivelmente motivado pela melhoria dos tratamentos dos fatores de risco vasculares como a hipertensão [1]. Assim, reconhece-se que a identificação e validação de um biomarcador imagiológico terá um impacto significativo na compreensão dos mecanismos da doença, bem como no processo de diagnóstico e prevenção da mesma.

1.4 Objetivos

O objetivo principal desta tese foi investigar o potencial da DWI para fornecer biomarcadores imagiológicos da SVD. Em concreto, pretendeu-se realizar uma análise de vários parâmetros quantitativos obtidos a partir da DWI (nomeadamente, FA e MD) em dois grupos de doentes com SVD e respetivos controlos saudáveis, a fim de avaliar a viabilidade desta técnica na obtenção de biomarcadores da SVD. Por fim, pretendeu-se testar a validade das métricas quantitativas da integridade da microestrutura da WM correlacionando-as com medidas representativas do estado cognitivo dos doentes obtidas a partir de testes neuropsicológicos, assim como o volume das lesões características desta doença, o volume cerebral total e a idade.

1.5 Estrutura da Tese

Esta tese contempla um primeiro capítulo onde é feita a contextualização do tema em estudo, bem como são traçados os objetivos a alcançar e a motivação subjacente a este trabalho de investigação. O segundo capítulo oferece ao leitor uma abordagem geral dos fundamentos teóricos da SVD e um terceiro capítulo aborda os pontos mais relevantes inerentes à DWI. De seguida, a perspetiva teórica da tese termina no quarto capítulo onde é feito um levantamento do Estado da Arte. No quinto capítulo, são expostas as técnicas implementadas de processamento de DWI. Os resultados obtidos com a abordagem proposta são ilustrados no sexto capítulo, e a respetiva relação com a literatura é feita no capítulo sete. Por fim, apresentam-se as conclusões finais e resume-se as principais limitações encontradas e os passos mais pertinentes a tomar no seguimento desta tese.

2 | Doença dos Pequenos Vasos

A doença dos pequenos vasos contribui para cerca de 45% dos casos de demência sendo uma das mais importantes causas de perdas de capacidades cognitivas em idosos. Além disso, com uma esperança média de vida cada vez mais longa é provável que a incidência da SVD aumente, tornando-se um enorme desafio ao nível da saúde [9].

Neste capítulo pretende-se familiarizar o leitor com as definições principais associadas à SVD, bem como expor a classificação das subdivisões patológicas dos diferentes tipos da doença dando especial foco aos mais comuns e aos diretamente investigados nesta tese (Secções 2.1 e 2.2.1). Por fim, serão abordadas superficialmente as causas patológicas associadas (Secção 2.3) e o papel da neuroimagem no diagnóstico da SVD (Secção 2.5).

2.1 Definição e Classificação

A própria definição de pequenos vasos não reúne consenso junto dos centros Neuropatologia [9]. Na definição mais aceite referem-se ao conjunto das estruturas vasculares que englobam todas as pequenas artérias, arteríolas, vénulas e pequenas veias (com dimensão entre 5 μm e 2 mm de diâmetro) localizadas no parênquima cerebral ou no espaço subaracnóide (Fig. 2.1).

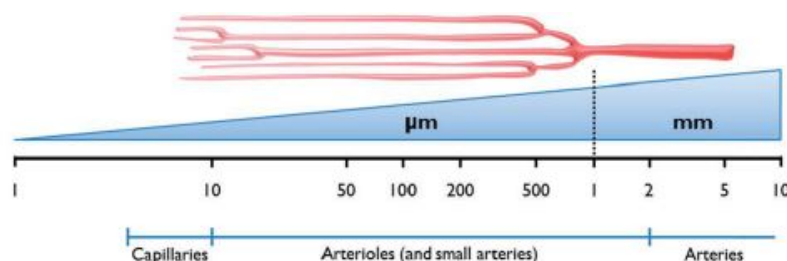


Figura 2.1: Representação do calibre das artérias, arteríolas e capilares envolvidos em SVD, em escala logarítmica. No topo representa-se esquematicamente o perfil típico de ramificação de uma artéria perforante [Adaptado de [9]].

A definição de SVD refere-se à descrição dos processos patológicos que afetam essas estruturas vasculares [1]. Vulgarmente, o termo SVD é utilizado para descrever e referenciar as lesões patológicas observadas no parênquima cerebral em imagem médica resultantes da doença em vez das patologias associadas aos pequenos vasos. A SVD manifesta diversas características patológicas, pelo que de acordo com a classificação mais aceite na comunidade de investigadores admite-se uma divisão da doença em 6 subtipos (Tabela 2.1). Dentro desta classificação, os subtipos 1 e 2, que correspondem a situações esporádicas, são os mais comuns [11].

Tabela 2.1: Classificação em subtipos da doença dos pequenos vasos [Adaptado de [11]]

Subtipo	Nome	Exemplo
1	Aterosclerose	
2	Angiopatia Cerebral Amilóide (esporádica e hereditária)	
3	Hereditária/Genética	CADASIL ^a MELAS ^b Doença de Fabry
4	Inflamatória/Doenças dos pequenos vasos imunologicamente mediadas	
5	Colagenose Venosa	
6	Outros	Angiopatia pós-irradiação

^a CADASIL cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical ischaemic strokes and leukoencephalopathy.

^b MELAS mitochondrial encephalopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes.

2.2 Subtipos de SVD

Nesta tese são considerados para a análise dois subtipos de SVD designadamente: (1) SVD esporádica (do inglês, *Sporadic Small Vessel Disease*, sSVD) e (2) CADASIL (casos hereditários). Deste modo, o ênfase dado aos processos patológicos e características principais dos restantes subtipos da doença será menor, reservando-se apenas as subsecções seguintes (2.2.1 e 2.2.2) para expor a sintomatologia associada a cada subtipo, tal como outras características relevantes para o estudo em causa.

2.2.1 CADASIL

Em 1993, CADASIL foi sugerida para descrever e designar um subtipo da SVD hereditário que afeta sobretudo adultos e conduz a perda de capacidades cognitivas culminando em casos de demência. NOTCH3 (*Notch homolog 3*) é o gene associado à CADASIL e codifica um recetor transmembranar primário que é expresso nas células do músculo liso. Mutações deste gene estão associadas à progressiva perda de integridade das paredes dos pequenos vasos. Nesse processo, áreas importantes do cérebro deixam de ser irrigadas convenientemente levando à perda de capacidades cognitivas [12]. As manifestações clínicas em CADASIL apresentam um espectro alargado de características sintomáticas que variam fundamentalmente entre e dentro das próprias famílias portadoras da mutação. Contudo, de acordo com o artigo de revisão apresentado por Chabriat *et al* [12], reconhecem-se 5 sintomas com expressão significativa em CADASIL encontrando-se os mesmos esquematizados na figura 2.2.

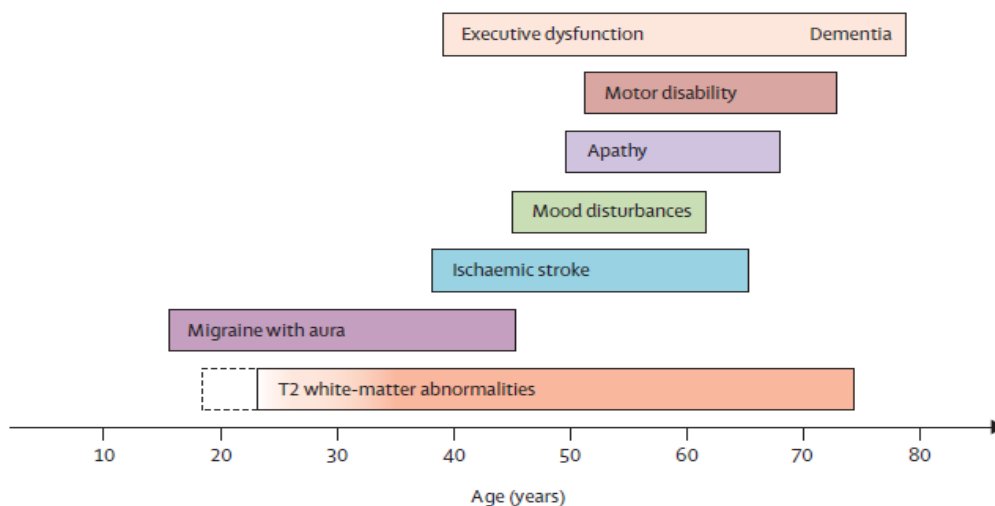


Figura 2.2: Principais manifestações clínicas em CADASIL. Ainda existe incerteza associada quanto à idade a partir da qual são detetáveis anormalidades na imagem ponderada em T2 (linha tracejada). A frequência no aparecimento das anormalidades da substância branca em imagens ponderadas em T2 aumenta progressivamente com a idade e a partir dos 35 anos em todos os doentes. CADASIL=Arteriopatia Cerebral Autossómica Dominante com Infartos Subcorticais e Leucoencefalopatia [Adaptado de [12]]

2.2.2 SVD esporádica

Os dois principais tipos de sSVD englobam os subtipos 1 e 2 mencionados anteriormente na tabela 2.1.

• Subtipo 1 - Aterosclerose

Mais especificamente, o subtipo 1 é designado por arteriopatia hipertensiva ou SVD associada à idade. Este termo descreve os casos de modificações das paredes dos vasos em consequência direta dos fatores de risco vasculares. Do ponto de vista histológico, as manifestações patológicas da doença abrangem um largo espectro de características desde degeneração fibrinóide até evidências de microateromas. Segundo Dichgans e Zietemann [13], os fatores de risco principais associados são: idade e hipertensão. Além destes, admite-se outros fatores como: fumar, inatividade física, diabetes, obesidade, AVCs e doença arterial periférica.

• Subtipo 2 - Angiopatia Cerebral Amilóide

A Angiopatia cerebral amilóide (do inglês, *Cerebral amyloid angiopathy*, CAA) é uma condição degenerativa caracterizada pela deposição progressiva de amilóide nos pequenos vasos cerebrais, mais especificamente nas paredes de arteríolas e capilares corticais e leptomeningiais. O número de proteínas envolvidas neste subtipo é diverso, mas os casos mais comuns demonstram uma influência relevante da amilóide β . As regiões corticais posteriores aparentam ser as mais afetadas por CAA. Este subtipo pode ainda ser classificado de acordo com a extensão dos danos patológicos definindo o grau de severidade da CAA, por exemplo, um grau moderado-severo demonstra forte correlação com os sintomas clínicos. Outro método de classificação considera os vasos diretamente envolvidos nesta patologia [1, 9].

2.3 Características e patogênese da SVD

O conjunto de eventos patológicos que desencadeiam a doença e conduzem às principais manifestações sintomáticas sobretudo na população de idosos, ainda permanece pouco claro e carece de mais investigação a fim de determinar o mecanismo subjacente à mesma. Tendo em conta o principal objetivo desta tese não serão aqui expostas de forma exaustiva as particularidades patológicas dos estudos histológicos realizados neste âmbito apesar de ser importante o conhecimento da patologia vascular para compreender a fisiopatologia do parênquima cerebral. Porém recomenda-se aos leitores mais curiosos e interessados no tema a consulta dos capítulos 2, 3 e 4 do livro *Cerebral Small Vessel Disease*, Pantoni *et al* [4]. Sumariamente, e dado que o principal método de diagnóstico provém da imagem apresenta-se um esquema (Fig. 2.3) representativo da cascata de acontecimentos que traduzem as vias patológicas de degradação dos pequenos vasos até à expressão dos seus efeitos na MRI [11].

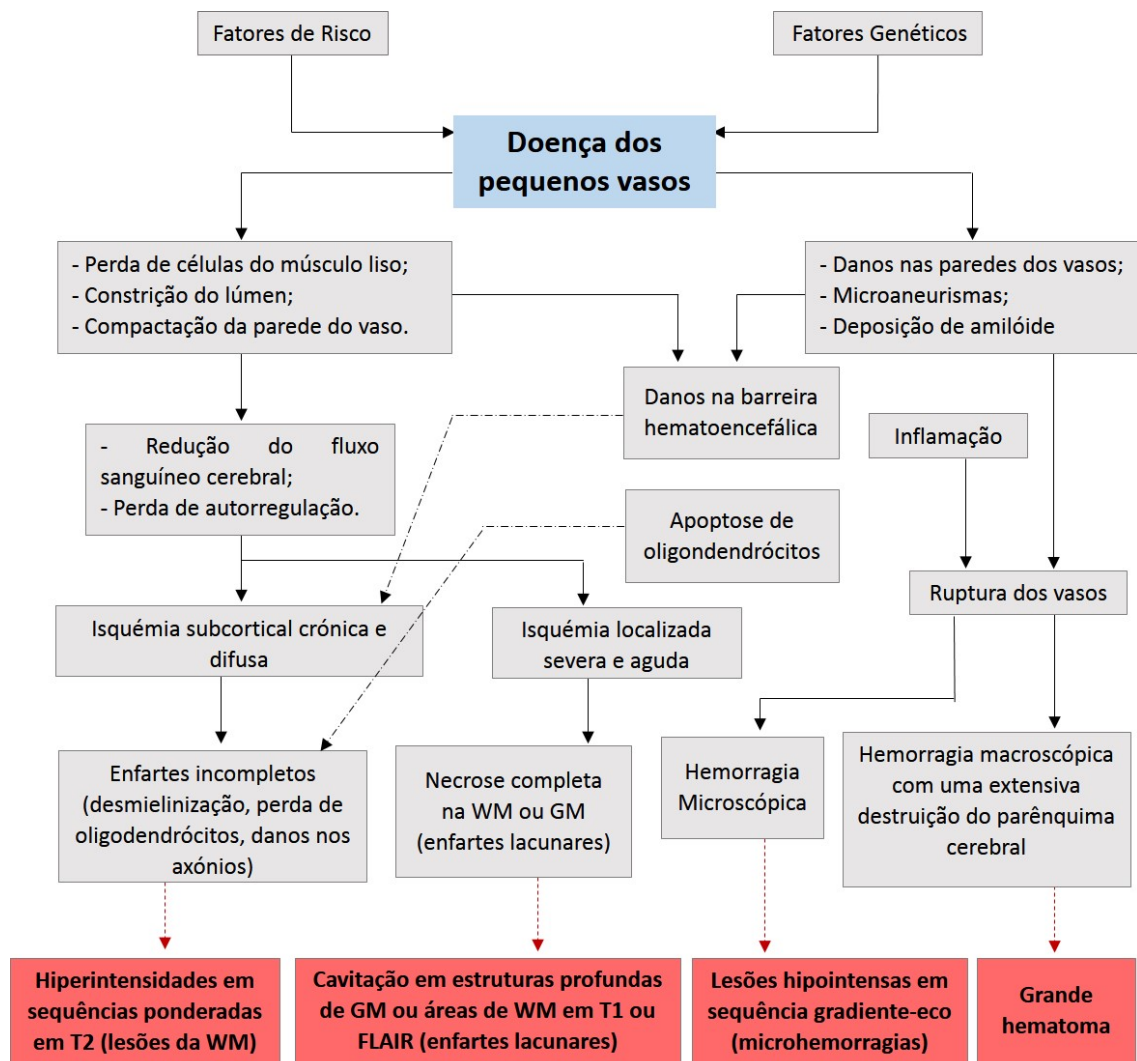


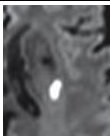
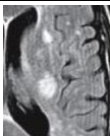
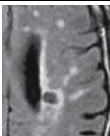
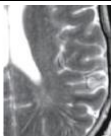



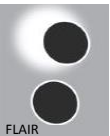
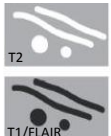

Figura 2.3: Patogênese dos danos cerebrais como resultado da SVD. O desencadeamento dos fenómenos patológicos associados à SVD provém de duas vias: fatores de riscos e fatores hereditários. As alterações patológicas a nível dos pequenos vasos podem resultar tanto em casos de isquemia como hemorragias. FLAIR = *Fluid-attenuated inversion recovery*, WM=Substância Branca, GM=Substância Cinzenta [Adaptado de [11]]

2.4 Métodos de tratamento da SVD

O desconhecimento e a falta de compreensão dos mecanismos subjacentes à cadeia fisiopatológica da SVD impossibilitam a aplicação de um tratamento efetivo que não só previna a doença mas também limite a sua progressão. Ainda muitas questões permanecem sob investigação, nomeadamente como é que as lesões da SVD contribuem para a expressão dos sintomas cognitivos e neurológicos e qual a sua associação com os fatores de risco. Mais estudos são requeridos a fim de objetivar novas estratégias de tratamento. Até ao momento a progressão da demência aparenta ter contrariado as estatísticas. Este facto pode ser devido ao controlo dos fatores de risco vasculares, particularmente a hipertensão, sendo esta a principal estratégia de prevenção da SVD [14–16].

2.5 Métodos de diagnóstico da SVD através de neuroimagem

Na SVD a dificuldade em observar os pequenos vasos *in vivo* acresce complexidade ao seu diagnóstico. A própria patogénese da doença não é ainda inteiramente conhecida [17, 18]. Dado o declínio cognitivo inerente à SVD uma possível abordagem para avaliar a extensão dos danos cognitivos é a avaliação neuropsicológica. Contudo, se forem considerados estudos longitudinais ou ensaios clínicos para testar novos tratamentos algumas desvantagens são reconhecidas. Em primeiro lugar, é um processo exaustivo e demorado e, por outro lado, existe um fator de aprendizagem que reduz a sua sensibilidade. Assim sendo, surgiu a hipótese de usar a MRI como um biomarcador imagiológico complementar para avaliar a progressão da SVD [15]. Esta abordagem não só demonstra potencial em fornecer biomarcadores imagiológicos da SVD como pode revelar novos aspetos sobre os mecanismos da doença. Os biomarcadores imagiológicos até ao momento estudados no âmbito da SVD podem ser subdivididos em: (1) derivados de técnicas convencionais de MRI e (2) derivados de técnicas avançadas de MRI. Na figura 2.4 são expostas as características da SVD representativas de biomarcadores imagiológicos derivados da imagem estrutural convencional.

	Pequenos Enfartes subcorticais recentes	Hiperintensidades da Substância Branca	Lacunas	Espaço Perivascular	Microhemorragias
Exemplo de Imagem					
Esquema da lesão					
Diâmetro usual	≤ 20 mm	Variável	3-15 mm	≤ 2 mm	≤ 10 mm
Nota	Identifica-se melhor em DWI	Localizado na WM	Normalmente tem um anel hiperintenso	Maioritariamente lineares sem o anel hiperintenso	Detetável em seq. GRE, circular ou oval
DWI	↑	↔	↔/(↓)	↔	↔
FLAIR	↑	↑	↓	↓	↔
T2	↑	↑	↑	↑	↔
T1	↓	↔/(↓)	↓	↓	↔
T2*	↔	↑	↔/(↓ em caso de hemorragia)	↔	↓↓

↑ Aumento de sinal ↓ Diminuição de sinal ↔ Sinal isointenso

Figura 2.4: Características da SVD em neuroimagem estrutural convencional. Exemplos ilustrativos reais no painel superior e uma representação esquemática das lesões na linha abaixo. Resumo das características das lesões nas linhas seguintes. WM=Substância Branca; DWI=Imagem Ponderada em Difusão; FLAIR=Fluid Attenuation Inversion Recovery; GRE=Gradiente Eco [Adaptado de [17]]

Em particular, os biomarcadores imagiológicos como hiperintensidades da substância branca (do inglês, *White Matter hyperintensities*, WMH) [19–21], lacunas [22–24] e o volume cerebral [1] têm vindo a ser extensivamente estudados, desde o início dos anos 90.

A quantificação da carga lesional das hiperintensidades da substância branca (do inglês, *Normalized White Matter Hyperintensities Lesion Load*, nWMHLL) é feita através de segmentação das lesões normalmente em imagens FLAIR. Além disso, a escala de Fasekas permite quantificar a quantidade de WMH presentes em T2WI de acordo com o grau de severidade [25]. Estudos longitudinais avaliaram a sensibilidade da nWMHLL para detetar a progressão da doença ao longo do tempo [26–28]. Nestes estudos foi possível calcular uma taxa de progressão da nWMHLL, associada a factores como idade e volume inicial de lesão, e ainda fatores de risco, principalmente hipertensão [29, 30]. Contudo, apenas correlações fracas entre a nWMHLL e os estados cognitivos foram encontradas em indivíduos saudáveis, e correlações fracas ou ausentes em doentes. A diversidade de métodos de segmentação pode estar na origem destas fracas associações. Por outro lado, as hiperintensidades observadas podem ser apenas o reflexo de um aumento do conteúdo de moléculas de água, não traduzindo os danos cerebrais consequentes da disrupção dos tractos. Este facto pode ser interpretado como uma limitação, dado que uma das principais teorias em SVD associa o declínio cognitivo como consequência da disrupção dos tractos. Além disso, este tipo de lesões são frequentemente detadas em estágios mais avançados da doença, contrariamente a técnicas de MRI mais recentes que demonstram sensibilidade em detetar alterações microestruturais em substância branca aparentemente normal (do inglês, *Normal appearing white matter*, NAWM) que são invisíveis em sequências convencionais de MRI [15].

Os enfartes lacunares são usualmente observados como regiões hipodensas em sequências de imagens ponderadas em T1 (do inglês, *T1-weighted Image*, T1WI) [15]. A sua presença e o número de lacunas demonstra correlações significativas com a funções executiva, velocidade de processamento, memória e função cognitiva global [31–33]. Os espaços perivasculares de menor dimensão que as lacunas estão também associados com a SVD [34]. Em doentes com CADASIL verificou-se uma ausência de correlação com a severidade das lesões estruturais, mas observou-se uma correlação significativa com idade [35]. A relação dos espaços perivasculares no âmbito da SVD carece ainda de mais investigação [15].

O volume cerebral é medido habitualmente em sequências em T1WI. Neste caso, os métodos de segmentação do volume cerebral têm demonstrado uma boa reprodutibilidade [15]. Normalmente, a métrica avaliada é o volume cerebral normalizado (do inglês, *Normalized Brain Volume*, nBV). A maioria dos estudos demonstraram existir correlação entre o nBV e o estado cognitivo [24, 26, 36–40]. Contudo, a atrofia cerebral não é um indicador exclusivo da SVD, estando também associado ao envelhecimento e demências como a doença de Alzheimer. [15].

Além destes, outros biomarcadores imagiológicos com base em técnicas avançadas de MRI têm sido propostos e investigados, por exemplo, DWI, perfusão e permeabilidade da barreira hematoencefálica. Dos quais a DWI tem demonstrado enorme potencial por ser sensível a alterações na NAWM quando comparado com a nWMHLL. Além disso, suporta a teoria de que a disrupção dos tractos desencadeia o declínio cognitivo em SVD [15].

3 | Imagem Ponderada em Difusão

A DWI é uma técnica avançada de MRI que permite inferir indiretamente acerca da microestrutura dos tecidos biológicos com base no movimento Browniano das moléculas de água [41]. No âmbito da SVD esta técnica tem demonstrado ser sensível a danos na WM pelo que é pertinente avaliar o seu potencial imagiológico como biomarcador da doença.

Neste capítulo pretende-se esclarecer os principais fundamentos associados à técnica de DWI, desde o conceito de difusão até à obtenção de mapas paramétricos quantitativos da difusão (Secções 3.1 a 3.6). Posteriormente, pretende-se consciencializar o leitor para os principais tipos de artefactos associados a DWI que terão de ser trabalhados no capítulo de Materiais e Métodos (Secção 3.7). Por fim, o capítulo termina com uma exposição dos aspetos metodológicos associados ao processamento de DWI (Secção 3.8)

3.1 O que é a difusão?

A difusão é um processo que ocorre naturalmente no meio biológico e traduz o movimento aleatório de qualquer molécula num fluido (por exemplo, moléculas de água) derivado da sua agitação térmica (Fig. 3.1) [42]. Dada esta componente aleatória não é possível prever a trajetória das moléculas de água no espaço tridimensional. A ideia subjacente à DWI parte do princípio que movimento aleatório das moléculas num meio livre é diferente comparativamente ao movimento das moléculas em meio biológico. Assim, se considerarmos que as moléculas em meio biológico estão sujeitas a barreiras físicas que dificultam o processo natural de difusão podemos inferir sobre a microestrutura do mesmo. É nesse âmbito que a DWI pretende ser sensível possibilitando a interpretação da microestrutura dos tecidos de forma não-invasiva [43].

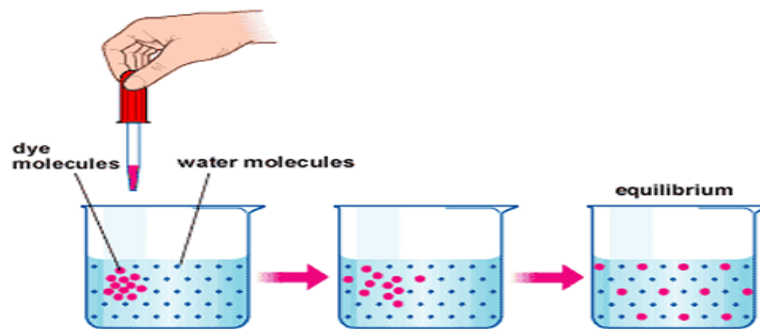


Figura 3.1: Representação ilustrativa do processo natural de difusão. As moléculas de corante movem-se aleatoriamente no recipiente em consequência da sua agitação térmica até atingirem o equilíbrio [Adaptado de [44]].

3.2 Representação física da difusão

Em 1905, nos trabalhos desenvolvidos por Einstein descreveu-se pela primeira vez formalmente o movimento molecular de difusão (movimento browniano) [45]. Em termos estatísticos, estabeleceu-se que para um número de partículas suficientemente elevado é possível caracterizar o desvio quadrático médio das moléculas em relação ao ponto inicial, $\langle r^2 \rangle$, como sendo proporcional ao tempo de observação, t (equação 3.1) [6, 42].

A ideia subjacente ao formalismo de Einstein faz supor que um dado número N de moléculas de água devidamente identificadas ao ser inserido num recipiente de água (no tempo $t=0$), é possível, posteriormente, medir os deslocamentos individuais de cada molécula após um dado intervalo de tempo (tempo de difusão, Δ). Assim, para cada distância considerada (r) é feita uma contagem das n moléculas de água que atingiram essa distância. Após esta contagem constrói-se o histograma do número relativo de moléculas à distância considerada (n/N) *versus* distância de deslocamento (r), numa dada direção [42]. Na figura 3.2 representa-se esquematicamente a trajetória aleatória de uma molécula de água (A) e um histograma típico de difusão (B).

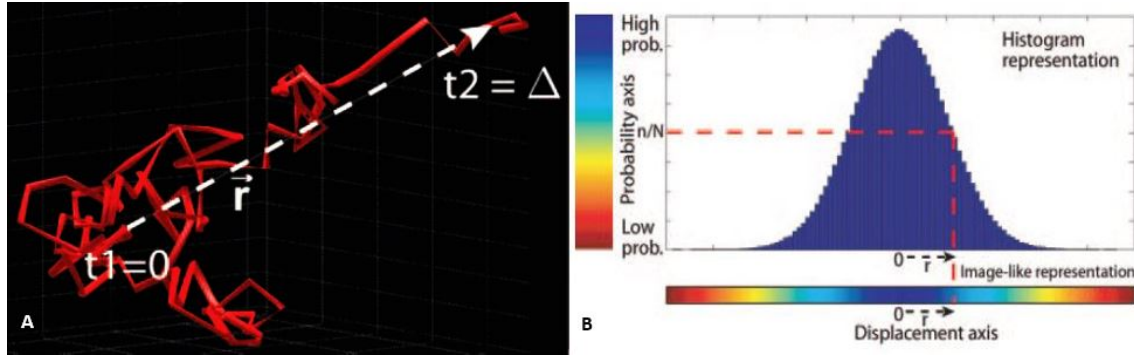


Figura 3.2: Representação física da difusão. (A) Diagrama ilustrativo da trajetória aleatória das moléculas (linha vermelha) de apenas uma molécula no processo de difusão. A linha a tracejado (vetor r) corresponde ao deslocamento da molécula durante o intervalo de difusão. (B) Histograma unidimensional típico de difusão. A cada distância r faz-se corresponder uma probabilidade (n/N) que simboliza a proporção de moléculas de água que se deslocaram até essa distância dentro do intervalo de tempo correspondente Δ . Por exemplo, a linha a tracejado é representativa da proporção de moléculas que se deslocou até à distância r . A cor azul indica a maior probabilidade e a cor vermelha a menor probabilidade de acordo com a barra colorida em baixo do histograma. Normalmente, assume-se que a distribuição é gaussiana [Adaptado de [42]].

O processo de difusão num meio homogêneo é bem descrito por uma distribuição gaussiana. Contudo, a distância que as moléculas irão percorrer depende do tipo de molécula, da temperatura, do meio e do tempo de difusão. Em consequência, a forma da distribuição poderá ser mais estreita ou mais larga. Do ponto de vista estatístico, esta variação é bem parametrizada pela variância. A equação 3.1 descreve essa relação, onde a constante de proporcionalidade é o coeficiente de difusão, D . Salienta-se que se permitirmos um tempo de difusão maior, a variância será igualmente maior, dado que as moléculas têm mais tempo para se difundirem [42].

$$\langle r^2 \rangle = 6Dt \quad (3.1)$$

3.3 Difusão e a microestrutura dos tecidos

A difusão no meio biológico corresponde a um modelo mais complexo quando comparado com o mesmo processo em meio livre. Hagmann *et al* [42] sugere uma analogia para entender melhor a diferença na distribuição dos deslocamentos em meio biológico com um modelo semelhante à figura 3.3. No espaço do recipiente encontramos moléculas de água em meio livre (azul) movendo-se aleatoriamente sem ultrapassarem os limites do recipiente. Ao introduzir um conjunto de moléculas de água dentro de esferas impermeáveis (verde), estas movem-se aleatoriamente no espaço limitado pelas fronteiras das esferas. Ou seja, existem moléculas em processo de difusão dentro de esferas impermeáveis e moléculas a difundir no espaço exterior circundante. A distribuição de deslocamentos associada a este modelo é inevitavelmente diferente da situação em que as esferas não estão presentes. Dado que, as moléculas em ambos os casos estão limitadas por barreiras,

a distância em que se podem deslocar será menor. Logo, esta diferença é o reflexo de restrições ao deslocamento livre das moléculas no meio onde se encontram. De notar que numa representação real do meio biológico as esferas não teriam propriedades impermeáveis. O meio biológico é altamente heterogêneo e composto por várias barreiras e compartimentos conectados entre si. Por conseguinte, o movimento das moléculas de água durante a difusão é restringido por obstáculos presentes na arquitetura citohistológica dos tecidos, de tal modo que o deslocamento das moléculas durante a difusão é reduzido em comparação com o expectável para um meio sem restrições, tal como na analogia anterior [42, 46].

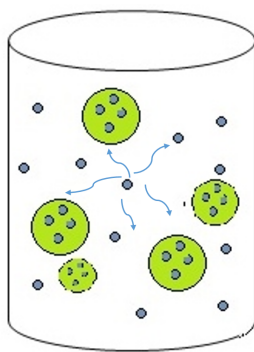


Figura 3.3: Analogia representativa do processo de difusão em meio biológico simplificado. No recipiente encontram-se moléculas em difusão dentro (verde) e fora (azul) das esferas verdes (representação simbólica de estruturas celulares). As setas azuis representam as direções aleatórias que uma molécula pode tomar, estando restringida no seu movimento pelas barreiras físicas e arquitetónicas do meio biológico.

A DWI utiliza o movimento aleatório da moléculas em meio biológico como método de inferência indireto sobre a microestrutura dos tecidos [47]. A questão que se impõe de seguida é como é que se estabelece essa relação e a resposta é dada pela equação de Einstein (equação 3.1) tal como indicado na secção anterior. Em cada volume que compõe a imagem (isto é, *voxel*) é medido o deslocamento médio das moléculas e por relação retira-se o coeficiente de difusão. Dado que estamos num meio biológico é expectável que o coeficiente de difusão seja menor, e que a sua estimativa dependa do tempo de difusão usado na medição. Este é usualmente designado por coeficiente de difusão aparente (do inglês, *Apparent Diffusion Coefficient*, ADC) .

3.4 Como se forma a imagem ponderada em difusão?

Entre 1960 e 1970, o crescente interesse em estudar o fenómeno de difusão em tecidos biológicos foi atendido com recurso à técnica de NMR (do inglês, *Nuclear magnetic resonance spectroscopy*) [48]. Mais tarde já em meados dos anos 80, com a introdução da DWI [49–51] emergiu um novo método altamente revolucionário para o estudo da difusão em tecidos biológicos. Através da combinação dos princípios de MRI com as contribuições iniciais dos estudos desenvolvidos em NMR, tornou-se possível obter medidas locais do

processo de difusão da água, *in vivo*, no cérebro humano [46]. De um modo geral, a técnica de MRI baseia-se na capacidade de manipular fisicamente o estado de magnetização das moléculas de água (átomos de hidrogénio, onde os *spins* se alinham com o campo magnético externo aplicado) com recursos a ondas eletromagnéticas. O contraste obtido com esta manipulação é consequência dos tempos de relaxação dos tecidos envolvidos (tecnicamente designados por T1 e T2), que traduzem a rapidez com que as moléculas de água magnetizadas retornam ao estado de equilíbrio depois de perturbadas pela aplicação de gradientes de campos magnéticos [52].

Os trabalhos de Stejskal e Tanner [53], desmitificam a questão subjacente aos mecanismos de MRI escolhidos para tornar este tipo de imagem sensível aos fenómenos de difusão. A sequência aplicada (Fig. 3.4) para obter a imagem pressupõe a introdução de dois gradientes com área idêntica (i.e., o mesmo produto entre amplitude, G , e duração, δ) aplicados em qualquer e igual direção antes e depois do impulso de 180° , numa sequência *spin echo* convencional. Isto confere ao sinal obtido a sensibilidade desejada para fenómenos de difusão, pois através da aplicação deste par de gradientes verifica-se que a fase dos *spins* estacionários não é afetada. Uma vez que o desfasamento induzido pelo primeiro gradiente é desfeito pelo segundo gradiente. Os *spins* que sofrem processo de difusão, por sua vez, ao moverem-se entre a aplicação dos dois impulsos perdem a coerência de fase (Fig. 3.5) [47]. Assim, a difusão resulta numa perda da intensidade do sinal devido ao incompleto refasamento dos *spins*, que se deslocam aleatoriamente entre e durante a aplicação dos dois gradientes.

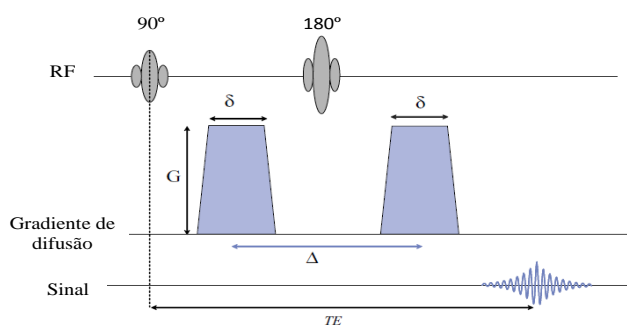


Figura 3.4: Sequência para aquisição de DWI. Um par de gradientes sensível à difusão é adicionado (azul) a uma sequência de *spin echo* convencional, antes e depois do impulso de 180° . O impulso de radiofrequência (RF) de 90° é aplicado para transferir a componente da magnetização em z para o plano transversal (xy) em simultâneo com o gradiente de seleção de corte. O impulso RF de 180° é aplicado para compensar as heterogeneidades do campo. O factor b (explicitado mais adiante) depende da amplitude do gradiente de difusão (G), da duração do gradiente (δ) e do intervalo entre a aplicação dos dois gradientes (Δ). O tempo de eco (TE) é o tempo entre a aplicação do impulso RF de 90° e o sinal de eco produzido em resultado da relaxação transversal [Adaptado de [54]].

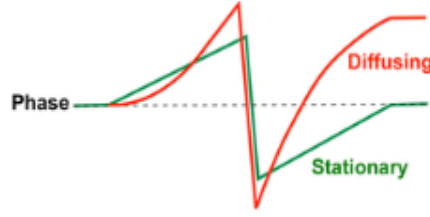


Figura 3.5: Perda de coerência de fase de um *spin* individual em difusão. O *spin* estacionário não é afetado pela aplicação dos dois impulsos (linha verde), enquanto que um *spin* individual que sofre difusão perde a coerência de fase (linha vermelha) [Adaptado de [55]].

O sinal da imagem ponderada em difusão pode ser descrito pelo modelo exponencial [43] dado por:

$$S_i = S_o \exp(-b \cdot ADC_i) \quad (3.2)$$

Na equação 3.2, S_i é a intensidade do sinal ponderado em difusão observado em determinado *voxel* com os gradientes sensíveis à difusão aplicados na direção i , S_o é a intensidade do sinal no mesmo *voxel* se não forem aplicados os gradientes, e ADC_i é o coeficiente de difusão aparente medido na direção i [1, 7, 8]. O factor b permite definir o grau de sensibilidade a fenómenos de difusão, de acordo com a equação 3.3 [43].

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \quad (3.3)$$

Onde γ é a constante giromagnética, G é a amplitude do gradiente de difusão tipicamente medida em mT/m, δ é a duração de cada gradiente em ms, e Δ é o intervalo de tempo entre o par de gradientes em ms. Tipicamente, os valores do factor b usados em clínica variam entre 600-1500 mm²/s. Para o cérebro humano num *scanner* de 3T o valor recomendado para o factor b é 1000 mm²/s [56].

Deste modo, a medida da variação da intensidade do sinal está subjacente aos deslocamentos aleatórios das moléculas, sendo possível através da equação 3.4 estimar o ADC. Verifica-se que dada a dispersão das fases adquiridas pelos *spins* devido ao processo de difusão, a inerente perda de coerência de fase traduz-se numa perda da intensidade do sinal. Em termos de imagem, isto reflete-se em zonas mais escuras. Logo, podemos afirmar que quanto maior for o ADC, maior será a dispersão das fases, e por consequência maior será a perda de intensidade de sinal. O raciocínio contrário ao anterior conduz à formação de imagens mais intensas. Do ponto de vista anatómico um maior ADC é reflexo de um meio com menos obstáculos à difusão [47].

$$ADC_i = -\ln\left(\frac{S_i}{S_0}\right)b \quad (3.4)$$

A tabela 3.1 exemplifica alguns valores típicos para o ADC em tecidos biológicos. De notar que tal como o esperado o líquido cefalorraquidiano (do inglês, *Cerebrospinal fluid*, CSF) é o que apresenta maior ADC pois tem menos obstáculos ao processo de difusão.

Tabela 3.1: Valores típicos para o ADC nos tecidos do cérebro humano [Adaptado de [54]]

Tecido cerebral	ADC ($\times 10^{-3} \text{mm}^2 \text{s}^{-1}$)	Sinal Relativo (com $b=1000 \text{mm}^2/\text{s}$)
CSF	2.94	0.05
Substância cinzenta	0.76	0.47
Substância branca	0.45	0.63
Substância branca com direção paralela às fibras	0.95	0.39

No entanto, outra particularidade associada à codificação da intensidade da imagem foi desvendada através dos estudos conduzidos por Moseley [57] em cérebros de gatos. Observou-se uma redução do ADC em isquémia dependente da direção de aplicação dos gradientes. Mais tarde estes estudos foram aplicados ao cérebro humano [58, 59].

No cérebro humano, os axónios são estruturas altamente direcionadas onde também ocorre o processo de difusão de moléculas de água. A teoria é que o ADC na direção paralela à orientação dos axónios é maior relativamente à direção transversal que é dificultada pela existência de membranas. Quando a difusão não ocorre de forma igual em todas as direções o meio diz-se anisotrópico. Em imagens com esta ponderação é possível verificar uma maior perda de sinal quando o gradiente é aplicado na direção das fibras e menor no caso perpendicular. Dada a relação inerente entre as características de intensidade de DWI é possível avaliar alterações na mobilidade das moléculas, consequência de patologias nos tecidos [46].

A título ilustrativo, a figura 3.6 permite inferir conclusões relativas à microestrutura do meio. Pela análise das imagens conclui-se que em determinadas regiões do cérebro o ADC é o mesmo em todas as direções. A difusão é isotrópica, ou seja, não existe uma direção preferencial para a difusão, os deslocamentos das partículas ocorrem de forma simétrica em todas as direções. Por outro lado, nas regiões marcadas pelas setas é possível notar uma diferença de contraste que traduz um meio anisotrópico. Podemos assim, inferir sobre a microestrutura destes tecidos. Por exemplo, nas zonas em que há diferenças de intensidade entre tecidos à medida que se muda a direção de aplicação do gradiente, sugere que à escala do *voxel* estes são altamente ordenados. Relativamente à imagem a), existe uma notória perda de sinal o que sugere que não existem muitos obstáculos nesta direção. Isto é, se existem menos obstáculos a perda de coerência de fase é maior, logo a atenuação do sinal é maior (escuro). Comparativamente, às restantes direções a atenuação de sinal é menor, indicando que o desvio quadrático médio (Eq. 3.1) é menor, pelo que devem existir obstáculos nestas direções a impedir a difusão de moléculas de água. Assim, relativamente à estrutura assinalada com uma seta na imagem, de forma não invasiva

podemos concluir que é uma estrutura ordenada com uma orientação predominante esquerda-direita.

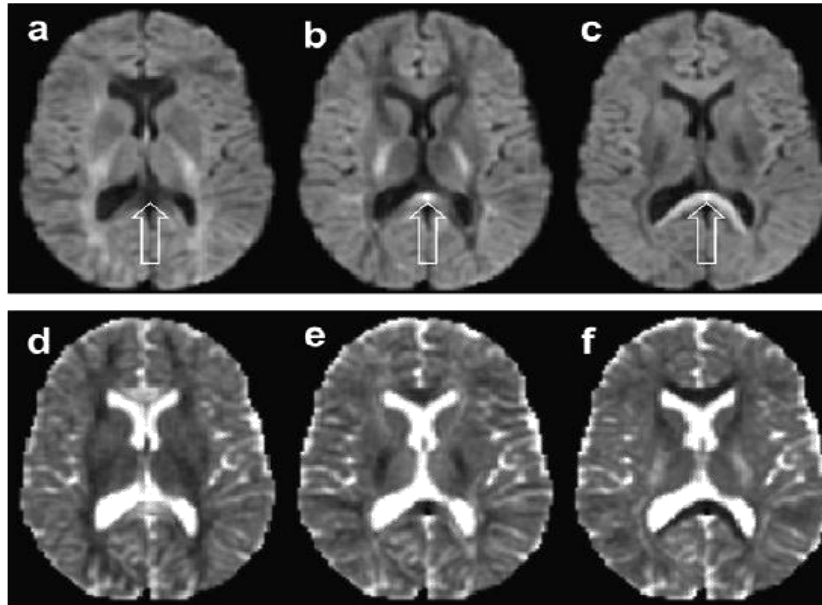


Figura 3.6: Efeito de mudar a direção de aplicação do gradiente de difusão na intensidade da ponderação em difusão (linha superior) e ADC (linha inferior). As imagens são referentes ao mesmo plano de imagem com gradientes aplicados em diferentes direções: esquerda-direita (a-d), anterior-posterior (b-e) e superior-inferior (c-f). A quantidade de ponderação foi a mesma para todas as imagens ($b = 1000 \text{ s/mm}^2$). A seta representada na linha de cima da imagem denota uma região onde se observa que a intensidade do sinal depende da direção de aplicação do gradiente [Adaptado de [60]].

3.5 Tensor de difusão

Tal como verificado anteriormente, existem meios anisotrópicos (Fig. 3.7). Consequência da ordenação e da própria estrutura dos tecidos, pelo que a descrição do comportamento das moléculas com base num único valor escalar de ADC não é suficiente. Pois não inclui informação sobre a direção de aplicação do gradiente. Quanto mais ordenado for o tecido maior será a dependência da direção da medição [60]. A difusão é então caracterizada por uma matriz de dimensão 3×3 (tensor) que descreve a difusão das moléculas em todas as direções. De um modo geral, as propriedades da difusão são formalmente descritas pelo tensor de difusão (do inglês, *Diffusion Tensor Imaging*, DTI). A diagonal principal da matriz reflete o ADC em cada uma das direções do espaço tridimensional e os valores fora da diagonal traduzem correlações entre eles. O primeiro índice traduz a orientação natural do tecido em questão, e o segundo índice traduz a orientação do gradiente aplicado. Deste modo, para a caracterização do tensor é necessário a aquisição de pelos menos 6 direções não-colineares e adicionalmente uma imagem com $b = 0 \text{ s/mm}^2$ [60].

A análise da figura 3.7 transmite alguma sensibilidade relativamente ao grau de anisotropia do meio e à forma como se caracteriza o tensor de difusão. Para meios isotrópicos, conclui-se que a mobilidade das moléculas em todas as direções é simétrica e é descrita através de uma esfera e apenas um escalar é suficiente para caracterizar a difusão nesse meio. Em meio biológico, o movimento das moléculas não é inteiramente livre existindo barreiras à sua mobilidade, logo o ADC é menor que o previsto para meio livre. No caso extremo, dito anisotrópico, existe uma direção preferencial no tecido, como no caso das fibras nervosas. Neste caso, o tensor de difusão é caracterizado pela matriz mais à direita na figura 3.7. Uma vez que a mobilidade das moléculas não é igual em todas as direções, o modelo correspondente à esfera para os casos isotrópicos é substituído por uma elipsoide e através da sua análise pode-se inferir acerca das direções principais da difusão para cada *voxel*. A elipsoide é uma representação, com igual probabilidade, da distância que a molécula irá difundir a partir da origem. A sua excentricidade traduz o grau de anisotropia do meio, ou seja, quanto mais excêntrica a elipsoide mais o ADC depende da orientação dos gradientes aplicados.

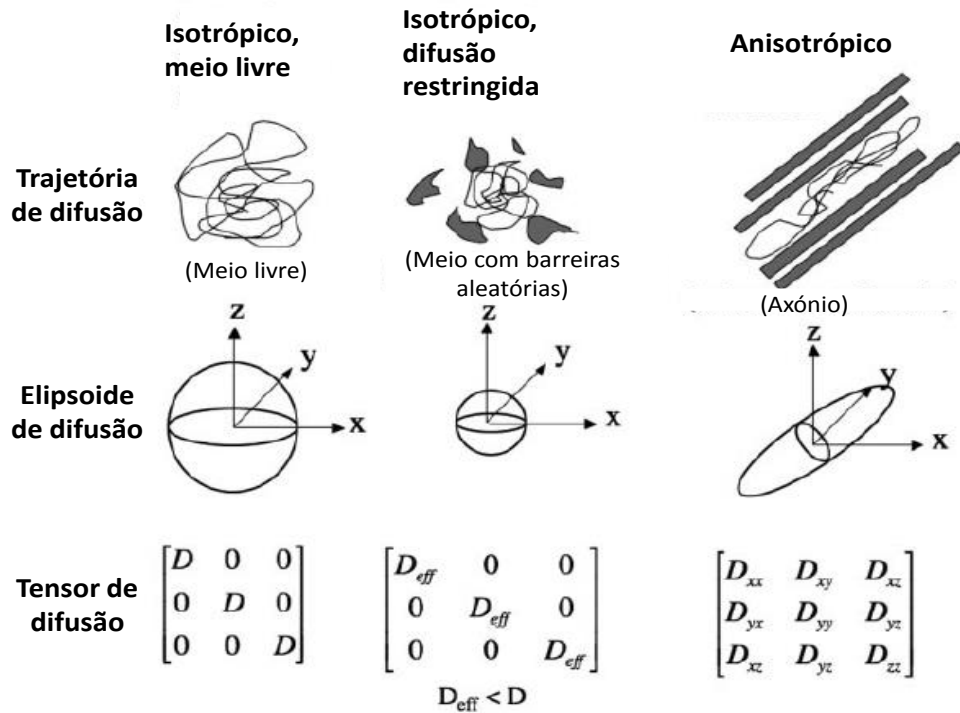


Figura 3.7: Tensor de difusão de acordo com o grau de anisotropia do meio. No caso de difusão isotrópica, a elipsoide de difusão é uma esfera, porque o ADC é igual em todas as direções. Na difusão isotrópica restrita, o ADC é inferior ao caso anterior porque há obstáculos ao movimento das partículas de água. Por fim, num meio anisotrópico a elipsoide de difusão é alongada numa das direções indicando que a difusibilidade média ao longo dessa direção é superior às restantes. O ADC já não é definido com base num único valor escalar, mas através de uma matriz de dimensão 3×3 [Adaptado de [43]].

3.6 Parâmetros quantitativos da difusão

O DTI permite estimar vários parâmetros que caracterizam o processo de difusão no meio [47]. Em termos numéricos, com base na matriz do tensor de difusão é possível determinar o traço da matriz (soma dos 3 valores próprios, $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ – diagonal principal) que corresponde à quantidade total de difusibilidade registada dentro de um *voxel*. A média da difusibilidade ao longo das três direções principais corresponde à MD.

O índice mais vulgarmente utilizado para caracterizar a anisotropia do meio é a FA, definida de acordo com a equação 3.5:.

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2} \frac{\sqrt{(\lambda_1 - \bar{\lambda})^2 + (\lambda_2 - \bar{\lambda})^2 + (\lambda_3 - \bar{\lambda})^2}}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}} \quad (3.5)$$

Na equação anterior, $\bar{\lambda}$ corresponde à MD. O índice FA é normalizado e toma valor entre 0 (meio isotrópico) e 1 (quando a difusão é restringida a apenas uma direção) (Fig. 3.8), assim permite concluir sobre o quão direcional é a difusão dentro de cada *voxel*. A partir deste índice é possível construir mapas quantitativos de anisotropia, onde os pixéis da imagem com maior intensidade estão associados a valores superiores de FA (que é o caso da WM).

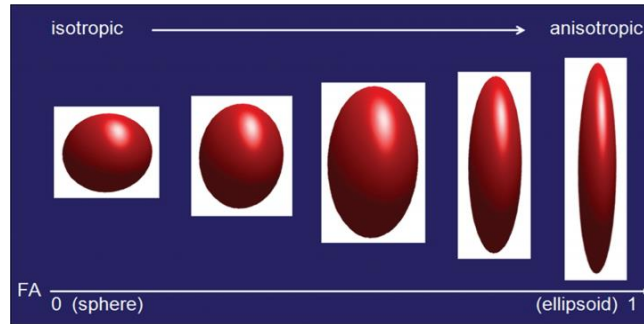


Figura 3.8: Representação gráfica do conjunto de configurações de difusão desde o caso isotrópico (esfera perfeita) correspondente ao valor de FA igual a 0 até ao caso limite de FA igual a 1, dito anisotrópico (elipsoide estreita) [Adaptado de [61]].

3.7 Principais artefactos em imagens de difusão

Apesar das técnicas de MRI constituírem um poderoso meio de suporte ao diagnóstico médico é importante ter em consideração as suas limitações, sobretudo a nível de contaminação das imagens com artefactos. Como tal, entenda-se por artefacto qualquer medida de sinal irregular derivada a partir da imagem que não corresponde à realidade do objeto que a originou [62]. No caso da técnica de DWI os principais artefactos associados a esta modalidade de imagem são descritos de seguida.

• Artefactos do próprio sistema de gradientes

O sistema subjacente à produção dos gradientes característicos da sequência de difusão é uma fonte inevitável de artefactos e exige que o sistema de *hardware* seja estável o suficiente para produzir as diferentes configurações que advêm da definição dos parâmetros do factor b . Os gradientes muito fortes podem comprometer a imagem ao induzir distorções. A própria mudança de direção dos gradientes induz vibração ao sistema que pode gerar um fonte secundária de artefactos de movimento ao provocar o movimento involuntário do sujeito [62].

• Correntes Parasitas

Em termos de imagem, estas correntes são consequentes do facto dos gradientes não se ligarem e desligarem instantaneamente. Dado que os gradientes de difusão são muito intensos acabam por se sobrepôr com os gradientes de codificação espacial resultando em distorções geométricas da imagem (Fig. 3.9). Além disso, pode induzir problemas de correspondência na fase de registo de imagens [63].

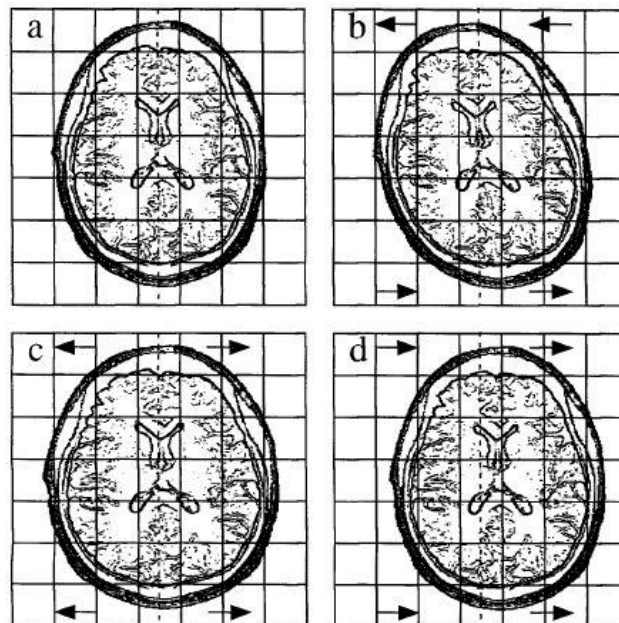


Figura 3.9: Distorções geométricas resultantes de artefactos de correntes parasitas. (a) imagem normal; (b) efeito de cisalhamento; (c) efeito de escala; (d) translação. Também se podem verificar combinações destes efeitos [Adaptado de [64]].

• Artefactos de movimento

A nível microscópico o movimento das moléculas de água é da ordem dos μm daí este tipo de imagem ser muito sensível a movimento da ordem dos mm . As principais fontes de movimento macroscópico são o próprio movimento da cabeça do sujeito, pulsatilidade e movimento fisiológico (por exemplo, respiração). Se todos os *spins* de um *voxel* experimentarem o mesmo deslocamento não se verifica uma perda de coerência, mas apenas uma variação de fase global que não influencia a atenuação do sinal. No entanto, durante

sessões de *scanner* muito prolongadas isto pode tornar-se um problema, onde o padrão de movimento macroscópico não se repete entre repetições da mesma sequência. Na fase de reconstrução da imagem isto torna-se problemático, uma vez que não existe coerência entre a distribuição global das fases. Na imagem estes artefactos são reconhecidos tipicamente por "*ghosts*" (Fig. 3.10) [63].

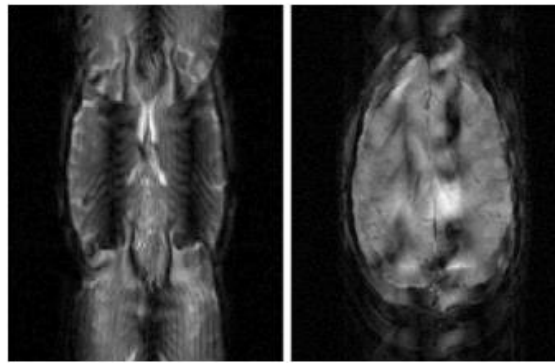


Figura 3.10: Exemplo de imagens com artefactos típicos de movimento: esquerda - *ghosting*; direita - grandes variações de sinal ao longo da imagem [Adaptado de [63]].

- **Artefacto de susceptibilidade magnética**

Os artefactos de susceptibilidade são uma consequência das heterogeneidades do campo, mesmo no caso de um campo perfeitamente homogéneo a presença do paciente dentro do *scanner* iria corromper esse homogeneidade. A susceptibilidade magnética é uma constante que traduz o grau de magnetização de um tecido quando exposto a um campo magnético externo. Mede-se como o rácio entre a magnetização do material e a amplitude do campo magnético aplicado. Esta magnetização pode alinhar-se ou opôr-se ao campo externo consoante as propriedades magnéticas dos tecidos. No caso em que se alinham com o campo externo (paramagnético), o campo interno produzido contribui para aumentar a magnitude do campo resultante, o que se revela problemático na reconstrução da imagem. Uma vez que, se assume uma relação de linearidade entre a localização e a magnitude do campo magnético, em regiões onde esta possa ter sofrido uma alteração induz distorções. Na imagem isto é um fenómeno comum na *interface* tecido-ar, e identifica-se por zonas hiperintensas ou perdas de sinal [62].

3.8 Aspectos metodológicos do processamento de imagens de difusão

As DWI seguem um conjunto de etapas típicas de processamento com o objetivo principal de aumentar a qualidade dos dados em análise (Fig. 3.11).

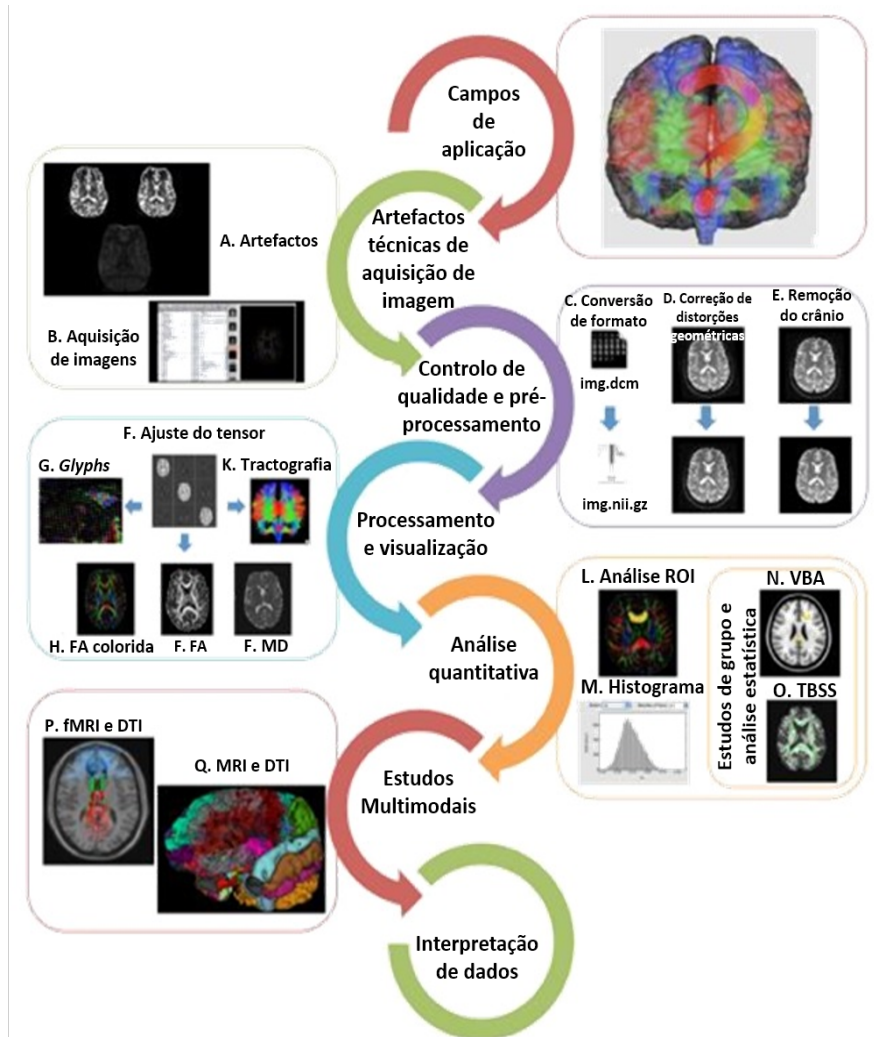


Figura 3.11: Diagrama ilustrativo das etapas típicas de processamento de DWI. O primeiro passo corresponde à escolha adequada do protocolo de aquisição (B) tendo em conta os principais artefactos associados a esta modalidade (A). Um passo de controlo de qualidade é exigido para ter uma ideia geral da qualidade do *dataset* e deverão fazer-se as conversões de formato necessárias (C). Seguidamente, procede-se à correção de distorções geométricas (D) e à eliminação do contorno do crânio (E). Antes de uma análise mais avançada, efetua-se o ajuste do tensor de difusão (F) e obtém-se parâmetros de interesse (G, H, I, J e K). Podem ser aplicadas análises quantitativas (L, M, N e O) e os resultados podem ser incorporados com outras modalidades de MRI (P e Q). Por fim, a interpretação de resultados requer do investigador extrema atenção e sensibilidade [Adaptado de [65]].

Os tópicos desenvolvidos de seguida referentes às principais etapas de processamento de DWI são baseados em [65].

3.8.1 Artefactos e protocolos de aquisição

Os artefactos associados aos estudos com DTI, são maioritariamente consequência da sequência de aquisição implementada, do movimento do sujeito e do próprio sistema de gradientes da máquina de MRI. Estas imagens apresentam tipicamente baixa relação sinal-ruído (do inglês, *Signal-to-noise ratio*, SNR) e resolução. De modo geral, o protocolo de aquisição é um dos pontos estratégicos para aumentar a qualidade das imagens seguindo como princípios:

1. Aquisições repetidas de toda a estrutura cerebral enquanto se varia a orientação dos gradientes aplicados ou a magnitude dos mesmos;
2. Dada a sensibilidade desta modalidade de imagem a artefactos de movimento, utiliza-se uma sequência rápida para reduzir o tempo de *scanner*. Normalmente, a sequência escolhida é a imagem Eco-Planar (do inglês, *Echo Planar Imaging*, EPI).

3.8.2 Controlo de qualidade e processamento

O processo de controlo de qualidade das DWI é importante para detetar artefactos antes de qualquer decisão sobre o método de correção a implementar e ter uma ideia global da qualidade das imagens. Assim, este passo pode servir para excluir imagens que não contribuam, posteriormente, para a consistência do ajuste do tensor de difusão. No entanto, a oferta de programas automatizados que lidem com esta etapa do processamento ainda é relativamente fraca. A tabela 3.2 resume os passos de controlo de qualidade normalmente sugeridos.

Tabela 3.2: Etapas sugeridas para o controlo de qualidade das imagens [Adaptado de [65]]

Passo	Descrição	Programas Disponíveis
1	Importação dos dados e verificação dos parâmetros de aquisição dos sujeitos.	Osirix (http://www.osirix-viewer.com/) MRICron (http://people.cas.sc.edu/rorden/mricron/index.html) FSL (https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki) ImageJ (https://imagej.nih.gov/ij/)
2	Avaliação visual das imagens para identificar potenciais artefactos; Vista em filme dos diferentes cortes para deteção de distorções geométricas entre volumes, perdas de sinal ou cortes em falta.	FSLView (https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FslView) FSLeYes (https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FSLeYes)
3	Pré-processamento: (1) Conversão de formatos; (2) Correção de artefactos típicos; (3) Remoção dos limites do crânio.	(1) MRICron; dcm2nii (https://www.nitrc.org/projects/dcm2nii/) (2) FMRIB's Diffusion Toolbox (FDT) (3) BET – FSL; Freesurfer (https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/)
4	Ajuste do tensor de difusão.	FSL Camino (http://camino.cs.ucl.ac.uk/)
5	Avaliação da estimativa do tensor de difusão por inspeção visual. Para este procedimento considerar referências anatómicas como o corpo caloso.	FSLView FSLeYes

3.8.3 Análise quantitativa

A nível estatístico pode ser do interesse do investigador desempenhar análises entre grupos ou individuais após a obtenção dos mapas paramétricos de FA e MD resultantes da etapa anterior. O principal interesse na maioria das vezes corresponde a encontrar diferenças entre grupos de sujeitos. De salientar que nesse âmbito as análises podem ser focadas a uma região específica ou analisar o cérebro por inteiro. Deste modo, existem quatro métodos disponíveis para este propósito: (1) Análise de região de interesse (do inglês, *Region of interest*, ROI); (2) Análise dos histogramas; (3) Análise baseada em *voxels* e (4) Análise estatística espacial baseada em tractos (do inglês, *Tract-based spatial statistics*, TBSS). A figura 3.12 sumariza algumas vantagens e desvantagens dos métodos anteriormente referidos.

O primeiro método requer a definição de uma ROI onde as áreas cerebrais são delimitadas com métodos manuais, semi-automáticos ou automáticos. No entanto, a abordagem manual mais frequentemente adoptada comporta alguns inconvenientes sobretudo por exigir um contorno manual da ROI. Este processo é moroso e requer sólidos conhecimentos anatómicos, além de que é difícil replicar manualmente a mesma área de estudo em diferentes sujeitos. Outra desvantagem é não permitir uma análise da difusão no cérebro todo [66].

A análise dos histogramas baseia-se na distribuição da frequência relativa das intensidades das medidas quantitativas da difusão no cérebro. A partir do histograma podem ser extraídos parâmetros representativos da distribuição, nomeadamente, o valor da média, a altura do pico, entre outros. Posteriormente, estes valores podem ser submetidos a testes estatísticos para a comparação entre grupos. Contrariamente, ao processo anterior este método permite uma análise global do cérebro, sem ser necessário delimitar a ROI, mas não permite obter informação espacial [65].

Por sua vez, na análise baseada em *voxels* é requerido um passo de registo das imagens para um espaço *standard* de forma a permitir a correspondência anatómica entre estruturas dos diferentes sujeitos e, posteriormente, a comparação entre grupos e correlação com regressores de interesse [65].

Por fim, o TBSS [67] sendo igualmente uma análise *voxel-a-voxel* surge para ultrapassar algumas limitações de alinhamento das imagens da abordagem anterior. O TBSS estabelece uma correspondência espacial entre os pontos com valor de máximo de anisotropia e uma projecção de um “esqueleto” dos tractos comuns entre sujeitos [68]. Assim, o TBSS tem como objetivo aumentar a sensibilidade, objetividade e interpretabilidade da análise de múltiplos sujeitos em estudos com DTI. Esta ferramenta não requer uma definição prévia da região cerebral de interesse fazendo uma análise global do cérebro.

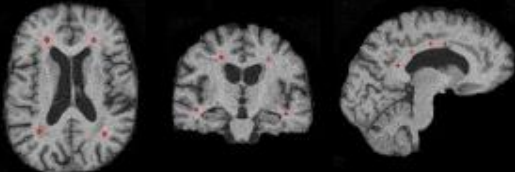
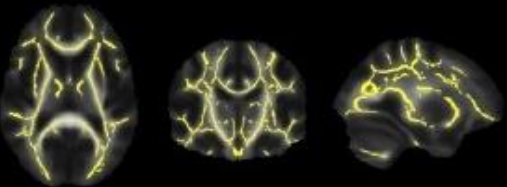

	Método	Vantagens	Desvantagens	
A 	Análise baseada numa região de interesse (ROI)	Desenhar manualmente ou por método automático uma região de interesse	Evita a variabilidade anatómica individual; Aumenta a inferência estatística ao focar-se em áreas relevantes.	Seleção arbitrária de regiões e tamanhos; Variações apenas nas regiões pré-selecionadas.
B 	Estatísticas espaciais baseadas em tractos (TBSS)	Máximos locais de FA são projetados no esqueleto (representativo dos tractos comuns entre sujeitos)	Reduz os erros de registos; Não aplica suavização; Fácil de utilizar, rápido e automático.	Alterações fora dos tractos da WM não são avaliados; Máximos locais podem não representar o centro do tracto de WM em casos patológicos.
C 	Análise baseada em voxels (VBM)	Comparação das imagens de difusão em cada voxel entre sujeitos depois do co-registo de todos os sujeitos para um espaço comum	Rápido e automático; Análise da WM e GM de todo o cérebro.	Sensível a desalinhamentos no registo; Pode produzir falsos positivos

Figura 3.12: Métodos de análise quantitativa de mapas paramétricos de DTI. Vantagens e Desvantagens nas duas colunas à direita, respetivamente. A) Região de interesse (ROI) - define uma região de interesse por método manual, semi-automático ou automático; B) *Tract-based spatial statistics* (TBSS) - Os locais onde a anisotropia fraccional é máxima são projetados num “esqueleto” e C) Análise baseada em *voxels* - compara as imagens de difusão em cada *voxel* após o co-registo de todos os sujeitos num espaço *standard*. WM=Substância branca; GM=Substância Cinzenta; FA=Anisotropia Fraccional [Adaptado de [69]].

4 | Estado da Arte

Nas duas últimas décadas, DTI tem sido utilizado para avaliar pacientes diagnosticados com SVD, uma vez que demonstra ser sensível aos danos nos tecidos e pode evidenciar alterações patológicas tanto nas áreas com WMH como nas áreas com NAWM [69].

Neste capítulo são colocados em perspectiva os principais estudos de DTI no âmbito da SVD. Na secção 4.1 foi feito um levantamento dos estudos que evidenciaram uma relação significativa entre os parâmetros de DTI e alterações da microestrutura dos tecidos. Na secção 4.2 expõem-se alguns estudos que colocaram em perspectiva o potencial da difusão em comparação com os biomarcadores de MRI convencionais em SVD. Por fim, na secção 4.3 o leitor pode encontrar as investigações que demonstraram associações de interesse entre o estado cognitivo dos doentes e as métricas de DTI.

O conteúdo apresentado nas secções seguintes foi maioritariamente baseado na revisão da literatura publicada por Lyoubi-Idrissi *et al* [70].

4.1 Difusão como indicador de alterações microestruturais

Em 1999, surgiram as primeiras evidências relativas a alterações das medidas paramétricas de DTI num estudo com CADASIL [71]. Os seus principais resultados demonstraram um aumento de MD em paralelo com uma diminuição de FA em regiões classificadas como WMH a partir de imagens ponderadas em T2 (do inglês, *T2-weighted Image*, T2WI), em comparação com zonas de NAWM para controlos saudáveis. Na maioria dos estudos, tanto em doentes com CADASIL como sSVD, estes tipo de resultados parece ditar a tendência do padrão de alteração dos parâmetros de DTI [72–78].

4.2 Difusão e os biomarcadores de MRI convencionais em SVD

A avaliação do potencial das métricas derivadas a partir de DWI e DTI requer que sejam feitas comparações com os marcadores convencionais de MRI relativos a esta doença. Na tabela 4.1 listam-se os resultados mais relevantes.

Tabela 4.1: Principais correlações encontradas entre as métricas de DWI e DTI e os marcadores convencionais de MRI em SVD [Adaptado de [70]]

Estudos	Resultados
Mascalchi 2002 <i>et al</i> [79] Helenius 2002 <i>et al</i> [80]	Correlação positiva entre a média global do ADC e as medidas semi-quantitativas das WMH em pacientes com SVD
Ropele 2009 <i>et al</i> [78] Jokinen 2013 <i>et al</i> [81]	ADC medido em regiões de WMH revelou associação com a carga lesional
Akoudad 2013 <i>et al</i> [82]	FA ↓ e MD ↑ relacionadas com a presença de microhemorragias
Jouvent 2007 <i>et al</i> [83] Jokinen 2013 <i>et al</i> [81]	Aumento da difusibilidade relacionado com o grau de atrofia cerebral em sSVD e CADASIL

4.3 Correlação da difusão com o estado cognitivo em SVD

De acordo com Lyoubi-Idrissi *et al* [70], a abordagem mais comum dos estudos com DTI em SVD direcciona-se no sentido de encontrar correlações entre as alterações microestruturais dos tecidos, parametrizadas com as métricas extraídas do DTI, e o estado cognitivo dos doentes, avaliado através de testes neuropsicológicos (tabelas 4.2 a 4.4). No caso dos estudos com populações de doentes com sSVD e CADASIL podemos subdividi-los em 3 vertentes: (1) Correlação com o estado cognitivo global [69]; (2) Correlações mais específicas a determinados domínios cognitivos [38, 77, 84] e (3) Estudos com grandes populações - *Leukoaraiosis and Disability* (LADIS) [85] e *Radboud University Nijmegen Diffusion Tensor and Magnetic Resonance Cohort* (RUN DMC) [86]. Assim sendo, em estudos com doentes com sSVD, a primeira vertente revelou que a diminuição de FA e o aumento de MD na WM correlacionavam-se negativamente com o desempenho cognitivo global

[87]. Na maioria dos estudos que reduziram o universo de correlações a domínios cognitivos mais específicos, verificou-se uma forte correlação entre as alterações da difusão na WM e disfunções ao nível da função executiva [86]. Outros estudos focaram-se na análise da variação de métricas extraídas a partir de histogramas do cérebro todo ou de regiões específicas [79]. Recentemente, o estudo de Baykara *et al* [10] que implementou o método do TBSS, derivou, posteriormente, medidas do histograma correspondente ao esqueleto. A largura do pico do histograma do esqueleto de MD mostrou forte correlação com a velocidade de processamento em diferentes tipos de SVD. Por fim, os trabalhos desenvolvidos no âmbito do projeto LADIS usaram como métrica a altura do pico do histograma do ADC em todo o cérebro e também da NAWM, concluindo uma forte associação entre as variações das medidas quantitativas e os domínios representativos da memória, função executiva e velocidade em completar diferentes tarefas cognitivas. Por outro lado, o projeto RUN DMC reportou correlações significativas entre a MD na WM e o desempenho de diversos domínios cognitivos, em especial com a função executiva. No caso de estudos em populações com doentes diagnosticados com CADASIL os resultados demonstraram associações semelhantes às anteriores [39, 71, 88].

Por outro lado, alguns grupos de investigadores têm-se direccionado para abordagens mais específicas, preocupando-se com a investigação da possível existência de correlações significativas entre os parâmetros de difusão em regiões específicas do cérebro (por exemplo, hipocampo, corpo caloso) e a memória [89]. Além disso, uma outra linha de investigação tem explorado a eficiência global da rede de tractos em doentes com diferentes graus de disfunções, e lesões com diversas extensões, revelando-se uma associação entre essas características e o desempenho ineficiente da rede [90, 91].

Os critérios de seleção dos artigos referenciados nas tabelas 4.2 a 4.4 foram: (1) População em estudo incluir doentes com CADASIL e/ou sSVD e (2) Metodologia implementar algum dos métodos mencionados na secção 3.8.3.

Tabela 4.2: Principais investigações sobre a associação entre o estado cognitivo e as variações das métricas de DTI em doentes com sSVD - parte I [Adaptado de [70]]

Estudo	População em estudo	Método	Testes Neuropsicológicos	Principais resultados	Correlações com o estado cognitivo
O'Sullivan <i>et al</i> 2001 [87]	SVD (n=30) Idade: 69,7 ± 8,9 Controlos Saudáveis (n=17) Idade: 71,8 ± 7,9	ROI em 3 regiões de onde extraíram a média de FA e MD	MMSE, WCST	MD ↑ e FA ↓ em WMH e NAWM	FA e MD em NAWM mostraram correlação com MMSE e WCST
O'Sullivan <i>et al</i> 2003 [77]	SVD (n=36) Idade: 69,5 ± 8,8 Controlos Saudáveis (n=19) Idade: 71,6 ± 7,5	ROI em 3 regiões de onde extraíram a média de FA e MD	MMSE, WCST, WAIS-R, WMS, BFRT, FTT, fluência verbal, TMT A-B	MD ↑ e FA ↓ em WMH e NAWM	(1) ROI centro semioval: MD em NAWM correlacionada com função executiva e função intelectual; (2) ROI periventricular: MD em NAWM correlacionada com total de erros no teste Wisconsin <i>card sorting</i> ; (3) Modelo de regressão múltipla: MD na NAWM permaneceu correlacionada com o desempenho cognitivo
Nitkunan <i>et al</i> 2008 [38]	SVD (n=35) Idade: 68,8 ± 8,3	Histogramas de FA e MD	MMSE, WCST, WAIS-R, WMS, BFRT, FTT, fluência verbal, TMT A-B	Altura do pico de MD e mediana de MD ↑ e altura do pico de FA ↓ na WM 1 ano a seguir às primeiras aquisições	Altura do pico de FA correlacionado com função executiva na 1ª fase do estudo
Xu <i>et al</i> 2010 [84]	SVD (n=42)	Histogramas de FA e MD	MMSE, Testes Stroop, TMT A-B, RAVLT, RCFT, BNT, NPI, HDRS	MD e FA na NAWM mostrou diferenças entre os vários grupos com disfunções cognitivas	FA e MD em NAWM e WMH correlacionadas com atenção e função executiva
Schmidt <i>et al</i> 2010 [85]	SVD (n=340) Idade: 73,9 ± 5,1	Histogramas de ADC	VADAS-cog, Testes Stroop, TMT A-B, MMSE	Média de ADC e a posição do pico aumentaram em todo o tecido cerebral e no tecido aparentemente normal	Altura do pico de ADC do histograma de todo o cérebro mostrou associação com a memória, disfunção executiva e velocidade de processamento

SVD=Doença dos pequenos vasos; ROI=Região de interesse; FA=Anisotropia Fraccional; MD=Difusibilidade Média; ADC=Coefficiente de Difusão Aparente; MMSE=Mini-Mental State Examination; WCST=Wisconsin card-sorting test; WAIS-R=Wechsler Adult Intelligence Scale revised; WMS=Wechsler Memory Scale; BFRT=Benton Facial Recognition Test; FTT=Finger-Tapping Test; TMT=Trail Making Test; RAVLT=Rey Auditory Verbal Learning Test; RCFT=Rey Complex Figure Test; BNT=Boston Naming Test; NPI=Neuropsychiatric Inventory; HDRS=Hamilton Depression Rating Scale; VADAS-cog=Vascular Dementia Assessment Scale cognitive subscale; NAWM=substância branca aparentemente normal; WHM=Hiperintensidades da substância branca

Tabela 4.3: Principais investigações sobre a associação entre o estado cognitivo e as variações das métricas de DTI em doentes com sSVD e CADASIL - parte II [Adaptado de [70]]

Estudo	População em estudo	Método	Testes Neuropsicológicos	Principais resultados	Correlações com o estado cognitivo
Lawrence <i>et al</i> 2013 [76]	SVD (n=115) Idade: 70,01 ± 9,75 Controlos Saudáveis (n=17) Idade: 70,36 ± 9,18	Histogramas de FA, MD, AD e RD na NAWM	Digit span task, RCFT, SVLT, testes de Stroop, COWAT	Diferenças significativas entre os dois grupos. MD↑ e FA ↓ em NAWM no grupo SVD	Função executiva e velocidade de processamento correlacionadas com nº de lacunas, volume cerebral, danos microestruturais acedidos com DTI
Pasi <i>et al</i> 2015 [92]	SVD (n=36) Idade: 75,1 ± 6,8	Histogramas de FA e MD na WM	MMSE e MoCA	MD↑ e FA ↓ na WM	MoCA mostrou associação significativa com MD e FA
Baykara <i>et al</i> 2016 [10]	SVD grupo 1 (n=444) Idade: 65,3 ± 8,9 SVD grupo 2 (n=105) Idade: 74,9 ± 8,8 CADASIL grupo 1 (n=113) Idade: 49,1 ± 9,5 CADASIL grupo 2 (n=57) Idade: 53,4 ± 10,7	PSMD novo biomarcador	MMSE, TMT A-B, 1-letter subtask of paper-pencil memory scanning, Letter Digit Substitution	PSMD novo biomarcador	PSMD correlacionado com a velocidade de processamento em todos os grupos
Chabriat <i>et al</i> 1999 [71]	CADASIL (n=16) Idade: 59,3 ± 7,6 Controlos Saudáveis (n=10) Idade: 54,6 ± 7,2	ROI em NAWM e WMH	MMSE, Rankin Scale	60% MD ↑ e FA ↓ em WMH	MD ↑ em WMH relacionado com MMSE
Molko <i>et al</i> 2002 [93]	CADASIL (n=22) Idade: 54 ± 11 Controlos Saudáveis (n=10) Idade: 51 ± 11 (Estudo longitudinal de 21 meses)	Histograma; Traço da matriz do tensor de difusão	MMSE, Rakin Scale	Valor médio do traço ↑ em doentes; Altura do pico dos histogramas ↓ ao longo do estudo; Nenhuma alteração nos controlos	Alterações correlacionadas com MMSE e Rakin Scale

SVD=Doença dos pequenos vasos; ROI=Região de interesse; FA=Anisotropia Fraccional; MD=Difusibilidade Média; AD=Difusibilidade Axial; RD=Difusibilidade Radial; WM=Substância Branca; PSMD=Largura do pico de esqueletização da difusibilidade média; RCFT=Rey complex figure test; SVLT=Shum Visual Learning Test; COWAT=Controlled Oral Word Association Test; MMSE=Mini-Mental State Examination; MoCA=Montreal Cognitive Assessment;NAWM=substância branca aparentemente normal; WHM=Hiperintensidades da substância branca

Tabela 4.4: Principais investigações sobre a associação entre o estado cognitivo e as variações das métricas de DTI em doentes com CADASIL - parte III [Adaptado de [69, 70]]

Estudo	População em estudo	Método	Testes Neuropsicológicos	Principais resultados	Correlações com o estado cognitivo
O'Sullivan <i>et al</i> 2004 [73]	SVD (n=18) Idade: 46,3 ± 11,1 Controlos Saudáveis (n=12) Idade: 45,3 ± 17,4	ROI em 3 regiões	MMSE,WAIS-R, <i>digit span backward, symbol</i>	MD ↑ em WMH, NAWM e NAGM	Função executiva correlacionada com variações de MD
O'Sullivan <i>et al</i> 2005 [94]	CADASIL (n=18) Idade: 46,3 ± 11,1	Análise <i>voxel a voxel</i> de FA e MD	TMT A-B, FAS verbal fluency, <i>paired-associate learning</i>	MD↑ e FA ↓ em WMH em comparação com NAWM	Correlações com as tarefas executivas em regiões da WM no lobo frontal
Holtmannspotter <i>et al</i> 2005 [72]	CADASIL (n=62) Idade: 44 ± 9 (Estudo Longitudinal de 1 ano)	Histograma de MD	<i>Rakin Score</i>	Alterações significativas nos histogramas de MD	Alterações da média de MD associadas ao <i>Rakin Score</i>
Mascalchi <i>et al</i> 2016 [95]	CADASIL (n=18) Idade: 42,9 ± 11	TBSS	—	Diferenças encontradas entre o grupo de doentes e os controlos no esqueleto de AD, MD, FA e RD em diversas regiões	—

VD=Doença dos pequenos vasos; ROI=Região de interesse; FA=Anisotropia Fraccional; MD=Difusibilidade Média; AD=Difusibilidade Axial; RD=Difusibilidade Radial; WM=Substância Branca; MMSE=*Mini-Mental State Examination*; WAIS-R=*Wechsler Adult Intelligence Scale revised*; NAWM=substância branca aparentemente normal; NAGM=substância cinzenta aparentemente normal WHM=Hiperintensidades da substância branca

Estes estudos sugerem que os parâmetros quantitativos estimados pelo DTI podem ter um papel mais representativo dos danos associados à SVD em comparação com os biomarcadores das lesões em sequências de MRI convencionais [1]. A técnica de DTI pode consolidar-se como um dos mais importantes biomarcadores em futuros ensaios clínicos com SVD. Até à data a maioria dos estudos têm-se concentrado na relação entre as disfunções cognitivas e as variações do parâmetro de FA. Esta informação é, no entanto, limitada pelo que existe necessidade de repetir este tipo de estudo e investigar também a variação noutros índices derivados do DTI como a difusibilidade axial e radial. Transversalmente a todos os artigos analisados verifica-se que o potencial do DTI pode ser explorado em 3 diferentes direções para melhor compreender a patogénese e as consequências da SVD: (1) avaliar a arquitetura da substância branca pode permitir compreender os mecanismos das principais consequências clínicas; (2) pode fornecer um biomarcador confiável, especialmente em ensaios clínicos, da progressão ao longo do tempo da SVD bem como para medir os efeitos dos benefícios de intervenções terapêuticas; (3) pode ajudar a estimar melhor a presença real dos efeitos da SVD e a sua progressão [69].

4.4 Abordagem Proposta

Nesta tese, a abordagem escolhida pretendeu implementar o método TBSS para avaliar o potencial do DTI para identificar alterações microestruturais localizadas nos tractos principais da WM, bem como diferenças significativas entre grupos. Posteriormente, fez-se uma análise dos histogramas de FA e MD para a extração das respetivas métricas descritivas. Foi em seguida efetuada uma análise dos resultados dos testes neuropsicológicos através de um modelo de regressão linear múltipla, usando como covariáveis as métricas de DTI seleccionadas assim como métricas derivadas de métodos convencionais de MRI, de modo a avaliar o poder preditivo das várias métricas imagiológicas (DTI e convencionais) nos domínios cognitivos considerados.

5 | Materiais e Métodos

Neste capítulo, o procedimento de processamento das imagens de MRI é exposto estruturado pelas suas diversas fases. Inicialmente, é feita uma descrição dos dados em estudo, nomeadamente, a caracterização da população em estudo (5.1), e as características do protocolo de aquisição (5.3). Os teste neuropsicológicos representativos dos vários domínios cognitivos considerados neste estudo são também descritos na secção 5.2. Seguidamente, as secções 5.4 e 5.5 são reservadas à exposição dos métodos e passos de implementação escolhidos. Por fim, o capítulo encerra com a exposição da abordagem estatística implementada (secção 5.6).

5.1 População em estudo

Ao abrigo de um projeto de Investigação financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia, *NeuroPhysim*, em curso no Instituto de Sistemas e Robótica - Instituto Superior Técnico, foram recrutados dois grupos de doentes representativos de dois subtipos da SVD e um grupo de controlos saudáveis, entre 2015 e 2017. Do conjunto inicial de doentes excluíram-se dois sujeitos, um por possuir uma idade demasiado avançada comparativamente aos restantes doentes e outro pela elevada contaminação das imagens com movimento. Deste modo, os dados disponíveis incluíram 6 sujeitos com CADASIL, 11 sujeitos com sSVD e 8 controlos saudáveis. Os detalhes demográficos de cada grupo de sujeitos encontram-se listados na tabela 5.1.

Tabela 5.1: Características demográficas dos diferentes grupos

Grupo	Idade (média \pm desvio-padrão)	Género (F/M)
CADASIL	47 \pm 11	4/2
sSVD	56 \pm 1	9/2
Controlos Saudáveis	52 \pm 7	4/4

O respetivo diagnóstico foi feito pelos colaboradores do projeto do Departamento de Neurologia com base nos dados clínicos e em testes neuropsicológicos numa colaboração conjunta entre o Hospital da Luz (aquisição das imagens) e o Hospital Egas Moniz (avaliação neuropsicológica). Os dados foram recolhidos mediante o consentimento informado dos pacientes recrutados para o estudo de acordo com a regularização e aprovação do Comité de Ética. Os critérios de seleção e exclusão são sumarizados de seguida:

Critérios de Inclusão

1. Todos os grupos:

- Independência no desempenho de tarefas diárias – avaliado com a escala IADL (*Instrumental Activities of Daily Living*¹);
- Ausência de doenças hemodinâmicas significativas em grandes vasos – diagnóstico através de Ultrassonografia com Doppler.

2. Grupo de doentes:

- **CADASIL**
Pacientes sintomáticos com evidência de lesões da substância branca e diagnóstico molecular confirmado pela mutação do gene NOTCH3.
- **sSVD.**
Evidência de SVD em MRI – lesões da substância branca sem outra explicação plausível com estados moderados ou severos de acordo com a escala de *Fasekas*.

¹Escala de avaliação da independência a desempenhar tarefas diárias [96]

Critérios de Exclusão

1. Todos os grupos:

- Contraindicações para MRI

2. Grupo de doentes:

- Evidência de lesões da substância branca com outra causa conhecida;
- Presença de outras disfunções crónicas incapacitantes;
- Ocorrência de AVC num período de 3 meses anterior à data de recrutamento;
- Iliteracia;
- Acuidade visual comprometida.

5.2 Testes Neuropsicológicos

Da bateria de testes neuropsicológicos recolhida foram selecionados determinados testes representativos dos diferentes domínios cognitivos. Na tabela 5.2 encontram-se listados os testes selecionados. Decidiu-se investigar os domínios: (1) Velocidade de Processamento; (2) Função executiva; (3) Atenção e memória de trabalho e (4) Aprendizagem e memória de longo prazo. A opção por estes domínios tem por base a revisão da literatura apresentada na secção 4. Além disso, o perfil cognitivo dos doentes com SVD é frequentemente caracterizado por disfunções ao nível destes domínios [69, 97].

Tabela 5.2: Listagem do testes neuropsicológicos selecionados como representativos dos diversos domínios cognitivos. O primeiro teste traduz um pior desempenho quanto maior for o tempo de execução da tarefa e nos restantes pontuações mais altas são indicativas de uma melhor performance. TMT_A=Trail Making Test A; WAIS_III=Wechsler Adult Intelligence Scale

Domínio cognitivo	Testes Neuropsicológicos	Descrição
Velocidade de processamento	TMT_A	O indivíduo tem que unir uma sequência de números no menor tempo possível [98]
Função Executiva	Stroop de interferência	O indivíduo tem que ler a palavra que designa uma cor, sendo esta impressa numa cor diferente (interferência) [99]
Atenção e memória de trabalho	WAIS_III	O indivíduo tem que repetir uma sequência de números pela mesma ordem ou por ordem inversa [100]
Aprendizagem e memória de longo prazo	Rey memory	Tem que replicar um desenho primeiro por cópia e depois através da memória [101]

5.3 Protocolo de aquisição de dados

As imagens disponíveis para análise foram adquiridas num *Scanner* de MRI da *Siemens Verio* a 3T usando uma bobina recetora de radio-frequência de 12 canais. No âmbito do projeto foram adquiridas várias sequências de interesse subdivididas em dois grupos: (1) imagens estruturais e (2) imagens funcionais (tabela 5.3). Dado que esta tese pretendeu avaliar o potencial das métricas de DTI como biomarcador da SVD resumem-se os principais parâmetros de aquisição desta sequência na tabela 5.4. Salienta-se que tal como indicado na secção 3.8.1 aplicou-se uma sequência de aquisição rápida, EPI, com o objetivo estratégico de minimizar a contaminação da imagens com artefactos de movimento do sujeito. No apêndice A encontra-se uma tabela que resume detalhes sobre a idade, género, grupo e sequência de aquisição de DWI para cada sujeito.

Tabela 5.3: Lista da sequências adquiridas no âmbito do projeto *Neurophysim*

Imagens Estruturais	Imagens Funcionais
Imagem ponderada em T1 usando <i>Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo</i> (MPRAGE)	Imagem de perfusão por <i>Arterial Spin Labeling</i> (ASL)
Imagem Ponderada em T2 <i>Fluid Attenuation Inversion Recovery</i> (FLAIR)	<i>Imagem funcional por Blood Oxygen Level Dependent</i> (BOLD) <i>fMRI</i> em combinação com um desafio respiratório para imagiologia da reatividade cerebrovascular
<i>Double Inversion Recovery</i> (DIR)	
<i>Susceptibility-Weighted Imaging</i> (SWI)	
Imagem com ponderação em difusão (DWI)	

Tabela 5.4: Principais parâmetros de aquisição da sequência DWI

Parâmetro	Valor de aquisição
TR ^a	4.8 s
TE ^b	107 ms
FOV ^c	217,6 mm x 217,6 mm
Dimensão da matriz de reconstrução	128 x 128
Número de cortes contíguos	25
Espessura de corte	5.2 mm
NEX ^d	1
Ângulo de Nutação	90°
Factor b (<i>b-value</i>)	1000 s/mm ²
Número de volumes	63
Número de direções não colineares	20
Número de imagens sem ponderação (<i>b</i> = 0 s/mm ²)	3
Número de repetições	3

^a TR = Tempo de repetição; ^b TE = Tempo de eco; ^c FOV = *Field of View*;

^d NEX = Número de excitações

5.4 Processamento das imagens ponderadas em T1 e T2

Em adição às métricas extraídas a partir do DTI, T1WI e T2WI foram processadas para extrair biomarcadores convencionais da SVD com o intuito de avaliar o poder explicativo dos diversos estados cognitivos comparativamente às métricas de DTI. Nesse sentido, considerou-se medidas estruturais como o nBV e a nWMHLL relacionadas com SVD.

5.4.1 Imagem ponderada em T1

As imagens MPAGE foram adquiridas com os seguintes parâmetros: TE=2.26 ms, TI=900 ms, TR= 2250 ms, Ângulo de ntação=9° e resolução $1\times1\times1\text{ mm}^3$. A partir destas imagens extraiu-se o volume cerebral com recurso à ferramenta SIENAX (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/SIENA>) do FSL. O volume total da WM e GM foram individualmente estimados e normalizados em relação ao volume do cerebral de cada sujeito.

Posteriormente, a imagem MPAGE foi segmentada com a ferramenta FAST (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FAST>), assumindo os parâmetros *default*, em 3 tecidos: CSF, WM e GM. O objetivo desta segmentação foi poder extrair, posteriormente, métricas de histogramas usando como máscara a porção cerebral correspondente à WM. Como tal, uma vez obtida a segmentação, a máscara da segmentação da WM foi registada para o espaço *standard Montreal Neurological Institute* (MNI) (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Atlases>) usando as transformações do registo prévio do MPAGE para o espaço MNI.

5.4.2 Imagem ponderada em T2

A nWMHLL foi determinada previamente no âmbito de outra tese de mestrado [102] recorrendo a um processo manual de criação de máscaras em imagens FLAIR. As imagens FLAIR foram adquiridas com os seguintes parâmetros TE=97 ms, TI=2500 ms, TR=8500 ms, Ângulo de Ntação:150° e resolução $0.7\times0.7\times3.3\text{ mm}^3$. O volume de lesão foi calculado com auxílio da ferramenta *fslmaths* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Fslutils>). Os valores finais foram normalizados através da divisão do volume de lesão de cada indivíduo pelo respetivo volume cerebral resultante diretamente do SIENAX.

Além disso, para obter mapas de probabilidade da distribuição espacial das lesões em cada grupo de doentes, as máscaras dos indivíduos foram somadas por grupo e normalizadas em relação ao total de sujeitos de cada grupo. Um passo

adicional foi necessário para registar a imagem FLAIR para o MPAGE com uma transformação linear usando o FLIRT do FSL (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FLIRT>) e uma transformação não-linear do MPAGE com o programa *Ants - Advanced Normalization Tools* (<http://stnava.github.io/ANTs/>, [103]) para o espaço MNI. No espaço MNI as máscaras das lesões criadas a partir da FLAIR foram usadas para obter a porção da WM correspondente às WMH. O inverso da máscara das lesões interseccionada com a WM permitiu obter a NAWM.

A transformação linear corresponde à translação, rotação e escalonamento da imagem inicial para coincidir com a imagem do espaço MPAGE. Como são imagens do mesmo indivíduo o grau de diferença entre as duas imagens é menor, pelo que uma transformação linear é suficiente para obter um bom registo. O registo para o espaço MNI é feito através de uma transformação não-linear dado que o *template* do MNI representa a média do cérebro de vários sujeitos saudáveis. Assim, podem existir diferenças maiores na morfologia do cérebro do sujeito em relação ao *template*, nomeadamente atrofia das estruturas cerebrais, o que justifica a necessidade de usar uma transformação não-linear.

5.5 Processamento das imagens ponderadas em difusão

Nas secções seguintes serão pormenorizados os passos tomados a nível de processamento das imagens até à extração das métricas de interesse, e posterior análise estatística. Na figura 5.1 ilustra-se a sequência de processamento adotada neste estudo.

Particularmente, os passos de processamento de seguida detalhados foram executados com o programa FSL (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki>), versão 5.0.9. Usando as ferramentas disponíveis para o processamento de DWI e ferramentas auxiliares de visualização de imagem. A preferência por este programa advém do facto de entre todos os disponíveis ser o mais completo para o efeito pretendido (ver tabela 3.2) e por ter um grande volume de informação e esclarecimentos ao dispor do utilizador. As imagens foram trabalhadas no formato *NIfTI* (*Neuroimaging Informatics Technology Initiative*). Para a correlação das métricas extraídas do DTI com os outros dados clínicos disponíveis recorreu-se ao programa estatístico, *open source*, R (<https://www.r-project.org/>).

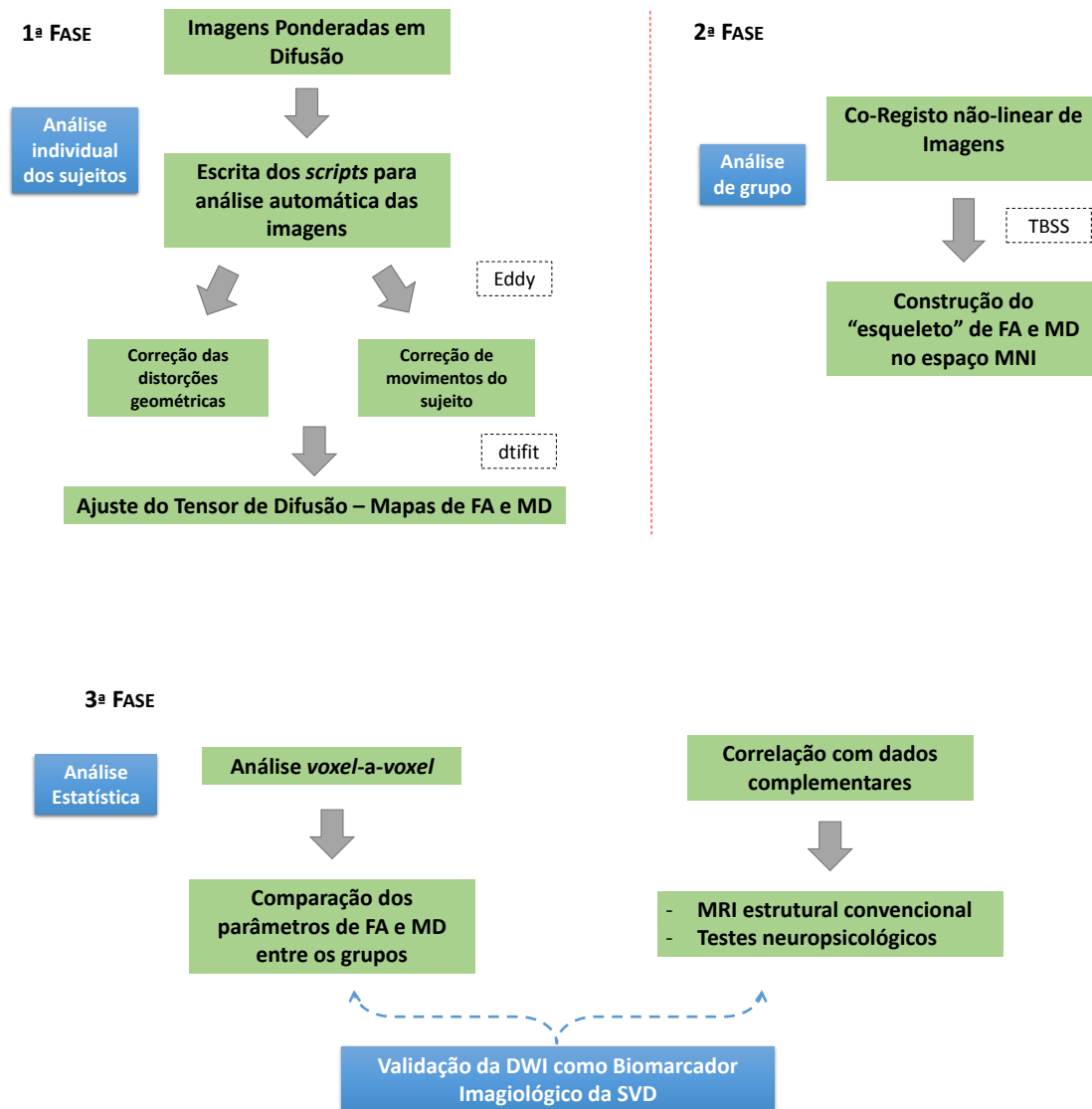


Figura 5.1: Sequência de processamento composta por 3 fases que foi implementada neste estudo. Na primeira fase foram desempenhados os passos de correção de distorções geométricas e artefactos, terminando com a estimativa do tensor de difusão para cada indivíduo de onde se extraiu os mapas de FA e MD. Na segunda fase executou-se o co-registo dos mapas de cada indivíduo no espaço MNI para permitir comparações entre grupos na fase final do processamento. Ainda nesta fase, obteve-se a projeção do esqueleto de FA e MD para cada indivíduo no espaço MNI. Na análise estatística, primeiro avaliou-se com a ferramenta *randomise* do FSL as diferenças entre grupos. Por fim, de modo a sustentar o potencial da DWI como biomarcador imagiológico da SVD correlacionou-se as métricas de interesse com outros dados disponíveis sobre os mesmos sujeitos. Nos retângulos a tracejado representam-se as ferramentas do FSL utilizadas em cada fase.

5.5.1 Controlo de qualidade

Inicialmente, é importante fazer o controlo de qualidade das imagens antes de qualquer processamento. A sequência de controlo de qualidade escolhida para aplicar às imagens consistiu em dois pontos de verificação: (1) pré-estimativa do tensor de difusão (DWI) (2) pós-estimativa do tensor de difusão (DTI).

No primeiro ponto de verificação apurou-se se todas as imagens tinham sido adquiridas sob os mesmos parâmetros de aquisição. Com recurso à ferramenta *fslinfo* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Fslutils>) comprovou-se que todas as imagens eram constituídas pelo mesmo número de volumes e apresentavam as mesmas dimensões. Em segundo lugar, investigou-se a qualidade geral das imagens em termos da presença de artefactos com auxílio do modo de vídeo e modo de visualização *Lightbox* da ferramenta *FSLView* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FslView/UserGuide>) detetando-se em geral a presença de algum movimento nas imagens e distorções por correntes de *eddy*, respetivamente. A figura 5.2 ilustra um exemplo da qualidade das imagens em questão.

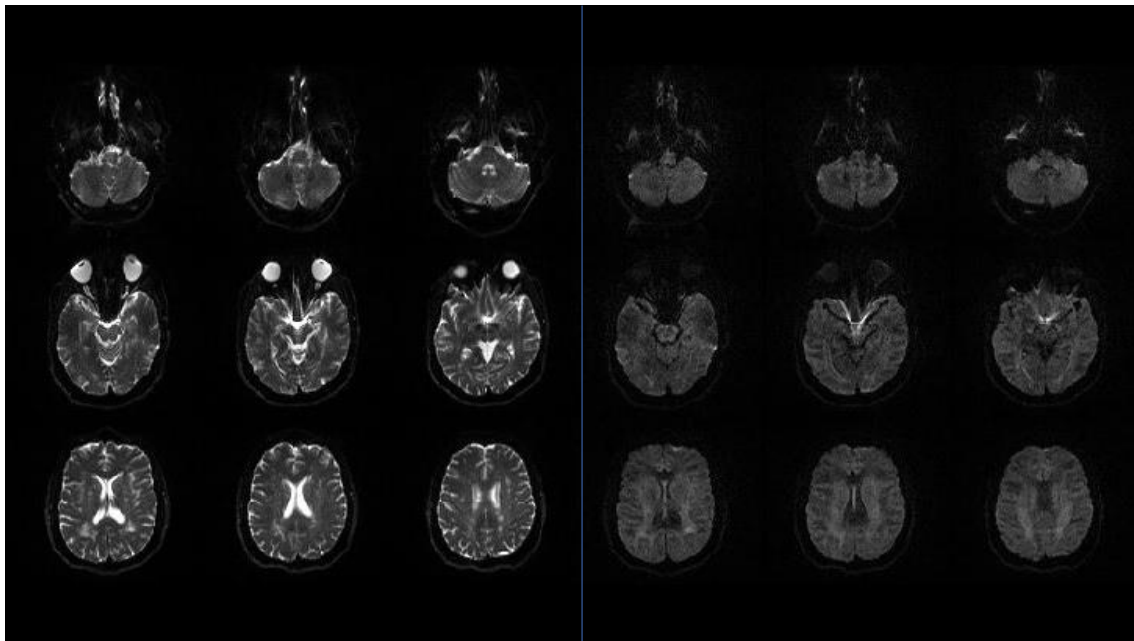


Figura 5.2: Exemplo ilustrativo da qualidade das imagens. De notar que o conjunto de cortes axiais à esquerda da linha de separação azul corresponde ao volume de índice 0 do sujeito 021 (sem ponderação em difusão, $b = 0 \text{ s/mm}^2$) e à direita encontra-se o volume de índice 3 do mesmo sujeito (com ponderação em difusão, $b = 1000 \text{ s/mm}^2$).

Por último, inspecionou-se os ficheiros *bvals* e *bvecs* para avaliar se as direções dos gradientes foram recolhidas corretamente durante a aquisição das imagens de difusão. O primeiro ficheiro contém a listagem de factores *b* usados em cada gradiente aplicado e o segundo regista a respetiva direção de aplicação do gradiente. A ordem das entradas nos dois ficheiros anteriores é correspondente à ordem dos volumes. Um dos requisitos da ferramenta de correção de distorções geométrica *eddy* do FSL (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/eddy>) pressupõe a amostragem dos gradientes em toda a esfera. No entanto, a sequência utilizada foi apenas amostrada em metade da esfera (Fig. 5.3). Para verificar as direções dos gradientes procedeu-se à estimativa do DTI com a ferramenta *dtifit* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FDT/UserGuide#DTIFIT>) do FSL sem qualquer método de correção previamente aplicado. Posteriormente, os resultados foram inspecionados visualmente escolhendo como estrutura anatómica de referência o corpo caloso, por ter uma forma bem conhecida e definida. Além disso, as zonas de WM mais periféricas foram igualmente inspecionadas. Considerou-se que as direções estavam corretas por comparação com as direções do atlas publicado por Wycoco *et al* [104].

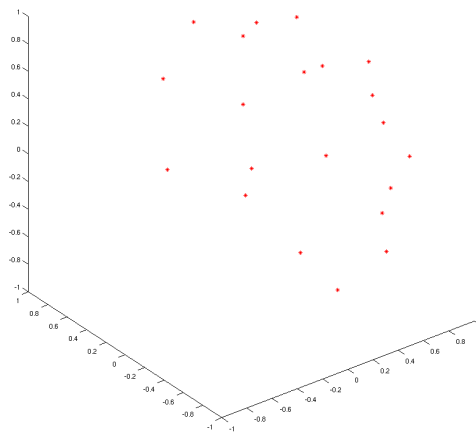


Figura 5.3: Direção de aquisição dos gradientes adquiridos na sequência DWI. Verifica-se uma amostragem em apenas metade da esfera. Gráfico obtido a partir do MATLAB (<https://www.mathworks.com/products/matlab.html>) com o código fornecido no tutorial prático do FSL (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/eddy>, 24/02/2017).

Além desta abordagem de inspeção visual para controlo de qualidade das imagens foram explorados programas que pudessem eliminar a componente subjetiva desta avaliação e facilitassem o processo com uma análise automática. O motivo

deste passo extra parte do princípio que uma boa qualidade das imagens é crucial para uma correta interpretação dos resultados e contribui para a precisão dos diagnósticos associados. O que se pretende de programas deste género é que avaliem a imagem *input* quanto à presença de artefactos e *outliers*², e que excluam os cortes ou volumes problemáticos da estimativa do tensor ou que procedam às correções devidas. Outra característica pretendida é que o programa tenha como *output* um relatório dos *outliers* encontrados para subsequente análise dos resultados obtidos.

Primeiramente, pesquisou-se na literatura os métodos mais populares para controlo de qualidade em DTI. O estudo comparativo desempenhado por Liu *et al* [106] serviu de base para a decisão final e remeteu-nos para 3 principais programas neste domínio: (1) *DTI Studio* [107] (2) *DTIPrep* [108] e (3) *TORTOISE* [109]. O *DTIPrep* de entre as opções é o único programa que foi desenvolvido com o propósito principal de integrar uma *pipeline* completa de controlo de qualidade em DTI. De um modo geral, a descrição das funcionalidades de cada programa resume-se de seguida:

- ***DTI Studio*** - apenas disponível para sistema operativo *Windows*, integra um conjunto de ferramentas analíticas que incluem regressões lineares e não-lineares, e deteção de *outliers* entre cortes e pixel-a-pixel (Método de Yue [110]), que são posteriormente corrigidos. Além disso, disponibiliza também ferramentas de registo de imagem, ajuste do tensor de difusão e tractografia.
- ***DTIPrep*** - disponível tanto para plataformas *Linux* como *Mac*. É composto por uma *pipeline* completa para o controlo de qualidade, desde a conversão de formatos a partir dos *dicom*s, verificação das informações de aquisição das imagens, deteção de diversos tipos de *outliers* típicos de DTI e correspondente correção, termina com o ajuste do tensor de difusão. O utilizador pode seleccionar os passos da *pipeline* que pretende implementar. No final, pode aceitar ou rejeitar as correções implementadas, pois tem acesso a um relatório dos resultados. O método subjacente à deteção de *outliers* pressupõe correlações normalizadas [108].
- ***TORTOISE*** - igualmente disponível para as mesmas plataformas que o *DTIPrep*. A deteção de *outliers* é feita no passo de ajuste do tensor tanto por métodos de regressão linear como não-linear (RESTORE [111]).

²*Outliers* - observações que apresentam um afastamento considerável dos demais valores do conjunto [105].

Numa primeira instância, o *DTI Studio* foi descartado por não facilitar a sua integração com as ferramentas do FSL que é executado em ambiente *Linux* e com o qual foi feita a maioria do processamento das imagens. De acordo com os resultados do estudo anteriormente referido, a performance das três ferramentas apresenta um conjunto de limitações e vantagens dependente do tipo de dados com que têm de lidar. Nenhuma se destacou consideravelmente em relação a outra, demonstrando até desempenhos semelhantes em imagens com baixa percentagem de *outliers*. Assim, cabe ao utilizador fazer uma escolha consciente de acordo com a qualidade das imagens que dispõe e com os pontos fortes de cada ferramenta. Por fim, optou-se por testar o programa *DTIPrep* e o método *RESTORE* disponível no programa *Camino* (<http://camino.cs.ucl.ac.uk/index.php?n=Man.Restore>).

Na prática, aplicou-se o *DTIPrep* ao *dataset* analisado nesta tese por ser a ferramenta mais promissora e com maior compatibilidade com os objetivos requeridos. O *DTIPrep* é direcionado para a análise de DWI sem qualquer tipo de correção de artefactos previamente aplicada e avalia a existência de artefactos de intensidade entre cortes com base no método de correlações normalizadas, que assume que estas correlações entre cortes vizinhos, considerando a mesma localização, ao longo de todos os volumes tem uma distribuição normal [108]. Como tal, qualquer perturbação desta distribuição é classificada como *outlier* e o respetivo volume é eliminado.

A implementação em si foi bastante facilitada com o uso da *interface* disponível. Inicialmente, aplicou-se o protocolo de verificação *default* do programa a um conjunto de imagens selecionadas como as mais problemáticas em termos de artefactos, mas os resultados obtidos não foram satisfatórios. Pela análise dos relatórios, conclui-se alguma discordância entre aquilo que o programa assumiu como *outliers* e a inspeção visual efetiva. Foi ainda alvo de tentativa, a implementação do protocolo após a correção das distorções geométricas com as ferramentas do FSL, selecionando apenas os passos relevantes. Todos os resultados falharam na verificação, admitindo-se que as correções introduziram variações não compatíveis com os pressupostos dos métodos subjacentes aos pontos de verificação e com os dados extraídos dos *dicom*s. O principal problema deste programa aplicado a este *dataset* foram as sucessivas falhas nos pontos de verificação. Identificou-se ainda como limitação deste programa a falta de informação relativa à otimização do protocolo *default* e esclarecimentos relativos aos métodos subjacentes, revelando ainda alguma falta de robustez do programa.

Numa segunda abordagem, testou-se a performance dos dois programas em dois *datasets* independentes do estudo desta tese, designados por exemplo 1 (resolução $1 \times 1 \times 4 \text{ mm}^3$) e exemplo 3 (resolução $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$). Primeiro, aplicou-se o protocolo *default* do *DTIPrep* em ambos e foram ainda feitas tentativas de otimização do mesmo. Em segundo lugar, testou-se o *RESTORE* que é um método que permite fazer o ajuste do tensor de difusão em simultâneo com a rejeição de *outliers*. Na tabela 5.5 resumem-se as principais desvantagens de ambos os programas de acordo com as experiências executadas.

Tabela 5.5: Desvantagens encontradas nos programas *DTIPrep* e *RESTORE* de acordo com as experiências executadas

Desvantagens DTIPrep	Desvantagens RESTORE
(1) Conversão de formatos – o facto do <i>DTIPrep</i> usar um formato de imagens diferente do FSL requer muitos passos de conversão. Isto é propício a perdas de informação entre conversões;	(1) Conversão de formatos – proporciona perdas de informação entre conversões;
(2) Apenas faz deteção de artefactos de intensidade em DWI;	(2) Passo manual de estimativa de SNR introduz subjetividade – devido à necessidade de fazer uma máscara manual da substância branca;
(3) Eliminação de um volume completo – além de contribuir para a não uniformização da distribuição espacial das direções dos gradientes, um reduzido número de direções não é vantajoso para o ajuste do tensor de difusão.	(3) O número de <i>outliers</i> depende da estimativa anterior, pelo que está dependente da sensibilidade do utilizador e conduz a resultados diferentes;
	(4) Não emite um relatório relativo à localização das anomalias identificadas.

Em conclusão, o *DTIPrep* foi considerado uma má opção devido à eliminação completa dos volumes, mesmo em situações em que apenas um corte estava comprometido. E devido à falta de informação para otimização do protocolo de análise. O *RESTORE* (Fig. 5.4) aparentemente revelou-se a opção mais confiável para a melhoria da qualidade das imagens. No final, verificou-se a existência de uma opção extra na ferramenta disponível no FSL para correção de distorções geométricas, designada por *eddy_repol* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/eddy/UsersGuide#A--repol>) (os detalhes relativos ao funcionamento deste método serão detalhados na secção 5.5.2). Esta opção além das correções desses artefactos lida com problemas derivados de perda de sinal e deteção de *outliers*. Esta ferramenta foi brevemente testada nos *datasets* extra, tendo revelado resultados bastante promissores (Fig. 5.5). De acordo, com um estudo de comparação da performance dos dois métodos [112], o método *eddy_repol* revelou resultados

mais próximos dos valores teóricos de FA que, por exemplo, a combinação dos dois métodos de detecção de *outliers*. Por isso, optou-se por implementar a ferramenta do *eddy_repol* por evitar a necessidade de converter formatos de imagens, mantendo assim a *pipeline* implementada toda integrada no mesmo programa.

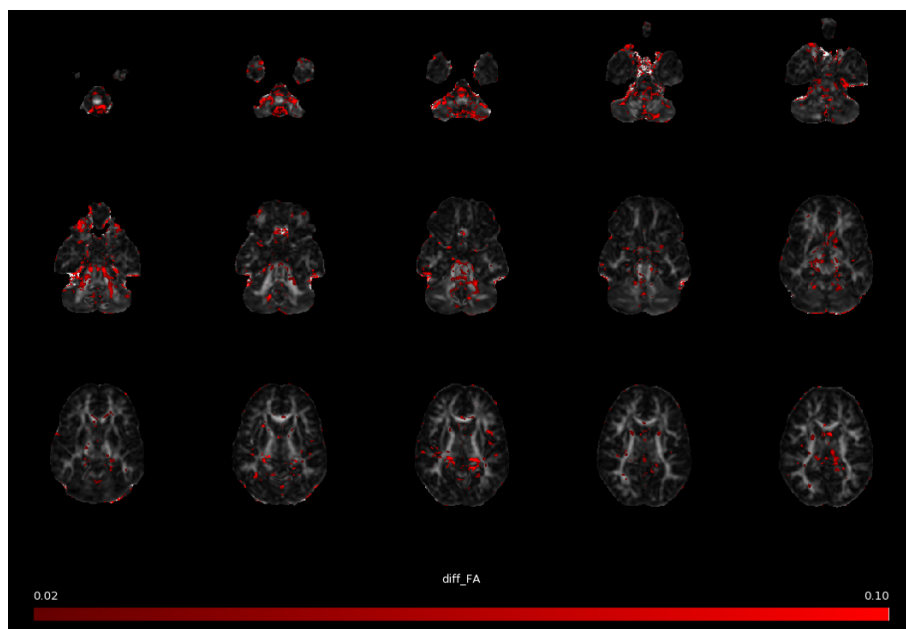


Figura 5.4: Comparação da performance das ferramentas RESTORE e *dtifit* na estimativa do mapa de FA. Mapa de FA sobreposto com as zonas de diferença (vermelho) entre os dois métodos de ajuste do tensor de difusão. Os pontos vermelhos correspondem a zonas tipicamente afetadas por artefactos, onde o algoritmo RESTORE demonstrou maior sensibilidade para detecção de *outliers*.

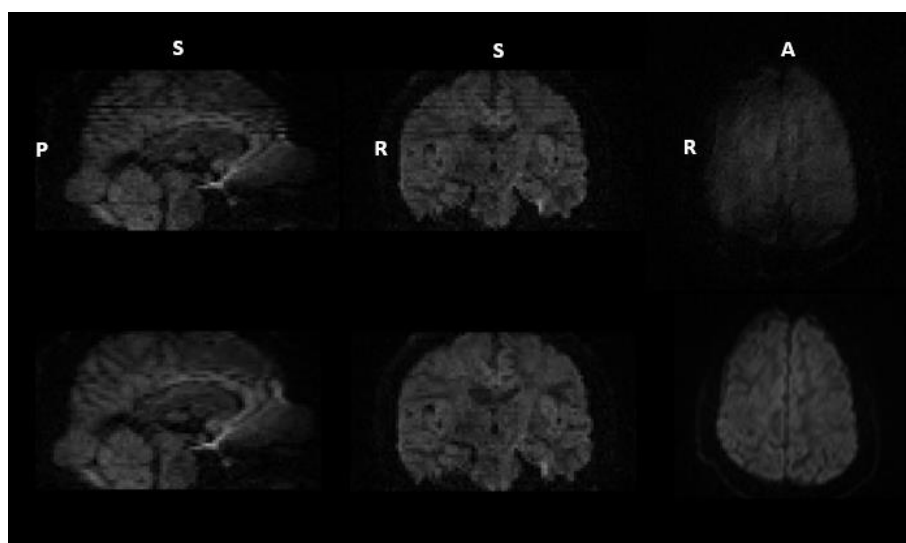


Figura 5.5: Exemplo ilustrativo da correção da ferramenta *eddy_repol*. A imagem superior corresponde à imagem DWI original sem correções, e em baixo encontra-se a correção com a ferramenta *eddy_repol*. Volume=63; Corte=38; Sujeito=Exemplo3

O processamento adotado nas quatro secções seguintes foi baseado no tutorial *FDT/TBSS practical* (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/practicals/fdt1/index.html>) do FSL, versão disponível a 24/02/2017. A figura 5.6 é representativa das funções utilizadas e dos passos sugeridos pelo tutorial.

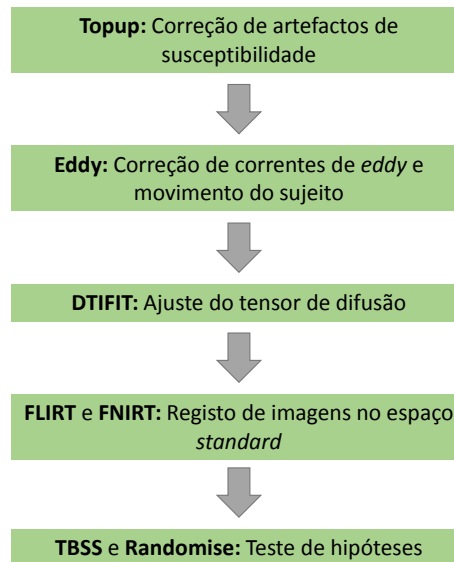


Figura 5.6: Esquema ilustrativo da *pipeline* seguida pelo tutorial do FSL. A negrito mencionam-se os nomes das funções correspondentes a cada passo [Baseado no esquema apresentado no próprio tutorial prático (24/02/2017)].

5.5.2 Correção de distorções geométricas e artefactos

A primeira fase da implementação do tutorial direciona-se para a correção de artefactos típicos da sequência de difusão (ver secção 3.7). Neste caso está subdividida em dois passos: (1) Correção de artefactos de susceptibilidade; (2) Correção de distorções geométricas por correntes parasitas.

• **Topup**

1. Método e requisitos

Tal como explicitado anteriormente as distorções geométricas e de intensidade associadas a estes artefactos são inerentes à sequência utilizada para a aquisição das imagens (EPI). O método subjacente à função *topup* propõe que adquirindo duas imagens com direcção de codificação de fase oposta obtemos a mesma magnitude de distorções mas em direcções contrárias. Acedendo a essa informação é possível estimar o mapa do campo de distorções e prever a correspondente imagem sem distorções numa situação hipotética com um campo magnético homogéneo [113]. Para a aplicação desta ferramenta de correção (*Topup*) é, então,

requerido que a sequência de difusão tenha sido adquirida em duas direções de codificação de fase opostas (por exemplo, anterior-posterior e posterior-anterior). No entanto, o *dataset* analisado nesta tese apenas foi adquirido numa direção de codificação de fase, inviabilizando a implementação deste passo de correção. Contudo, foi possível adquirir para um dos sujeitos uma sequência de difusão com direções opostas de codificação de fase, apenas para efeitos de teste desta ferramenta.

2. Implementação

Assim sendo, para o sujeito 045 foi aplicado um processamento paralelo cujo o objetivo foi concluir se a implementação completa do tutorial teria um impacto significativo na qualidade das imagens e subsequente ajuste do tensor de difusão. Primeiramente, para ganhar alguma sensibilidade às áreas mais afetadas por este artefacto, as imagens correspondentes a volumes sem ponderação em difusão ($b=0$) foram observadas no *FSLView*. Nesta análise, verificou-se que as distorções eram opostas em sinal, ou seja, zonas que apareciam mais alongadas numa imagem observavam-se mais comprimidas na outra (Fig. 5.7 e 5.8).

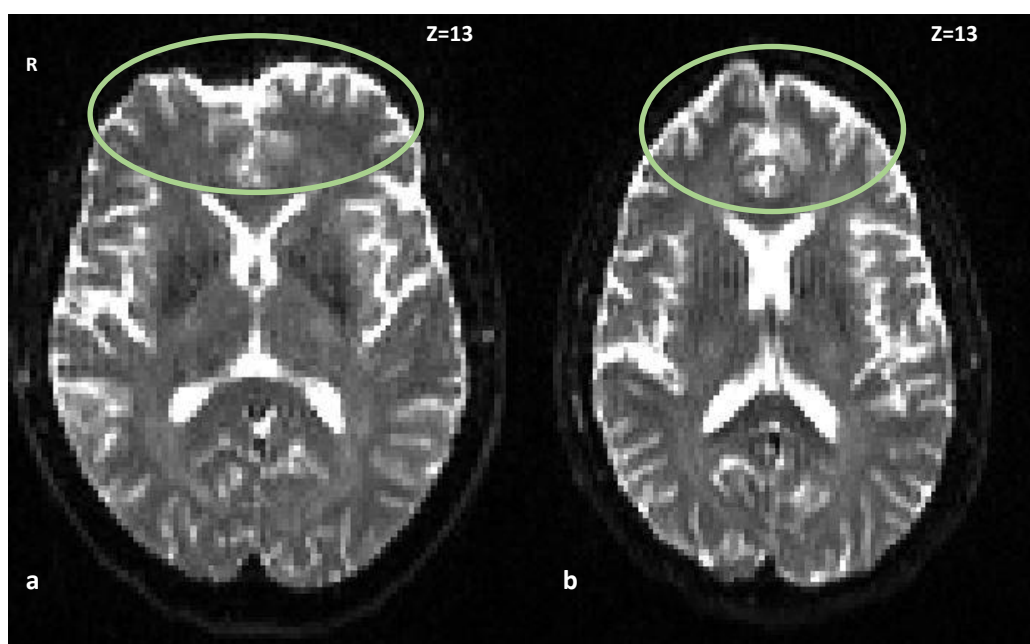


Figura 5.7: Imagens DWI representativas das distorções de susceptibilidade (círculo verde). a) Corte axial correspondente à direção de codificação de fase anterior-posterior. b) Corte axial correspondente à direção de codificação de fase posterior-anterior. Volume=0

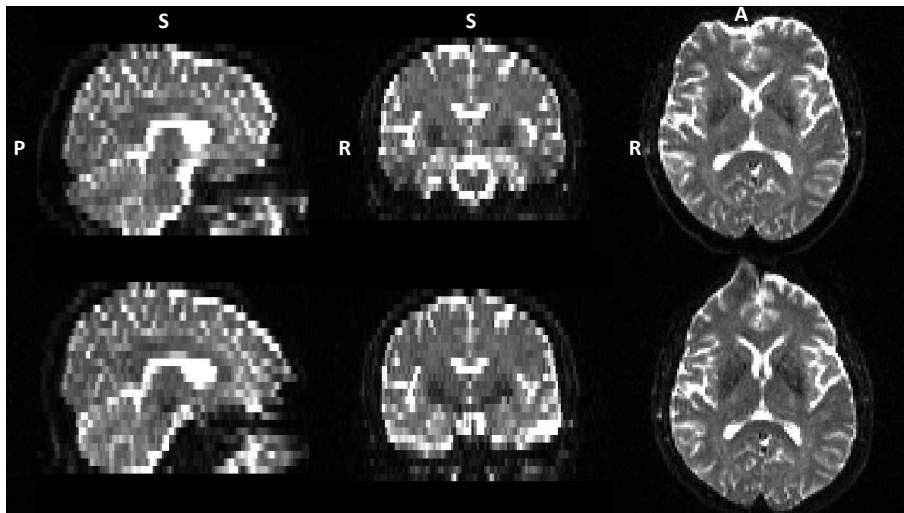


Figura 5.8: Na imagem DWI identificam-se pequenas regiões com distorção que apenas são identificáveis ao adquirir duas imagens com codificação de fase oposta. A imagem da linha superior é correspondente à direção de codificação de fase anterior-posterior, e a imagem da linha inferior tem a orientação contrária. Volume=0

No esquema 5.9 pode observar-se o conjunto de ficheiros dados como entrada à função *Topup* e os respetivos ficheiros de saída.

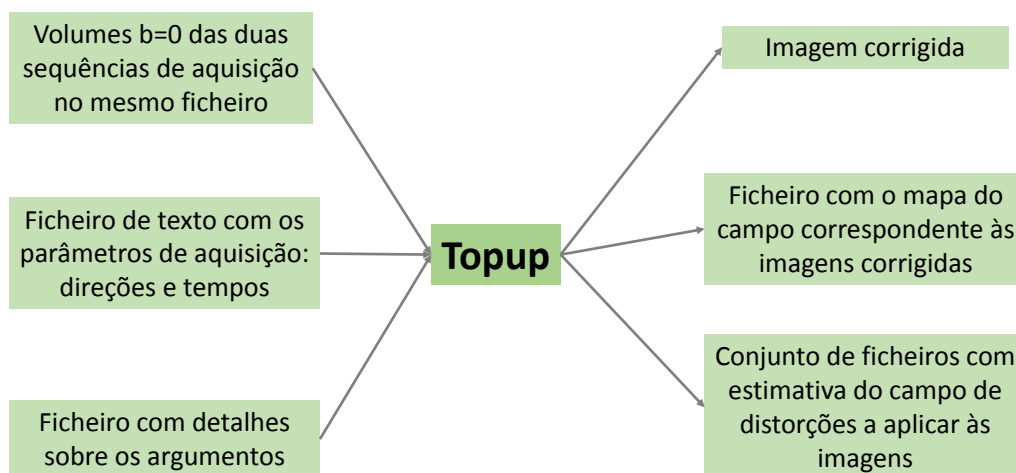


Figura 5.9: Esquema ilustrativo da implementação da função *Topup*. À esquerda o conjunto de ficheiros de entrada na função e à direita o conjunto de ficheiros de saída resultantes da implementação do método de correção de distorções de susceptibilidade [Baseado no esquema apresentado no próprio tutorial prático (21/08/2017)].

2.1 Resultados Comparativos

Os resultados da correção anterior podem ser implementados para todos os volumes com recurso à função *applytopup* ou podem ser incorporados como argumento no algoritmo de correção *eddy*. Neste ponto dado o carácter apenas comparativo deste processamento, optou-se pela opção de correção completa. Uma perspectiva ilustrativa dos resultados das correções é representada pela figura 5.10. De um modo geral, concluiu-se que a atuação conjunta das ferramentas *topup* + *eddy* contribuem para a melhoria da qualidade das imagens.

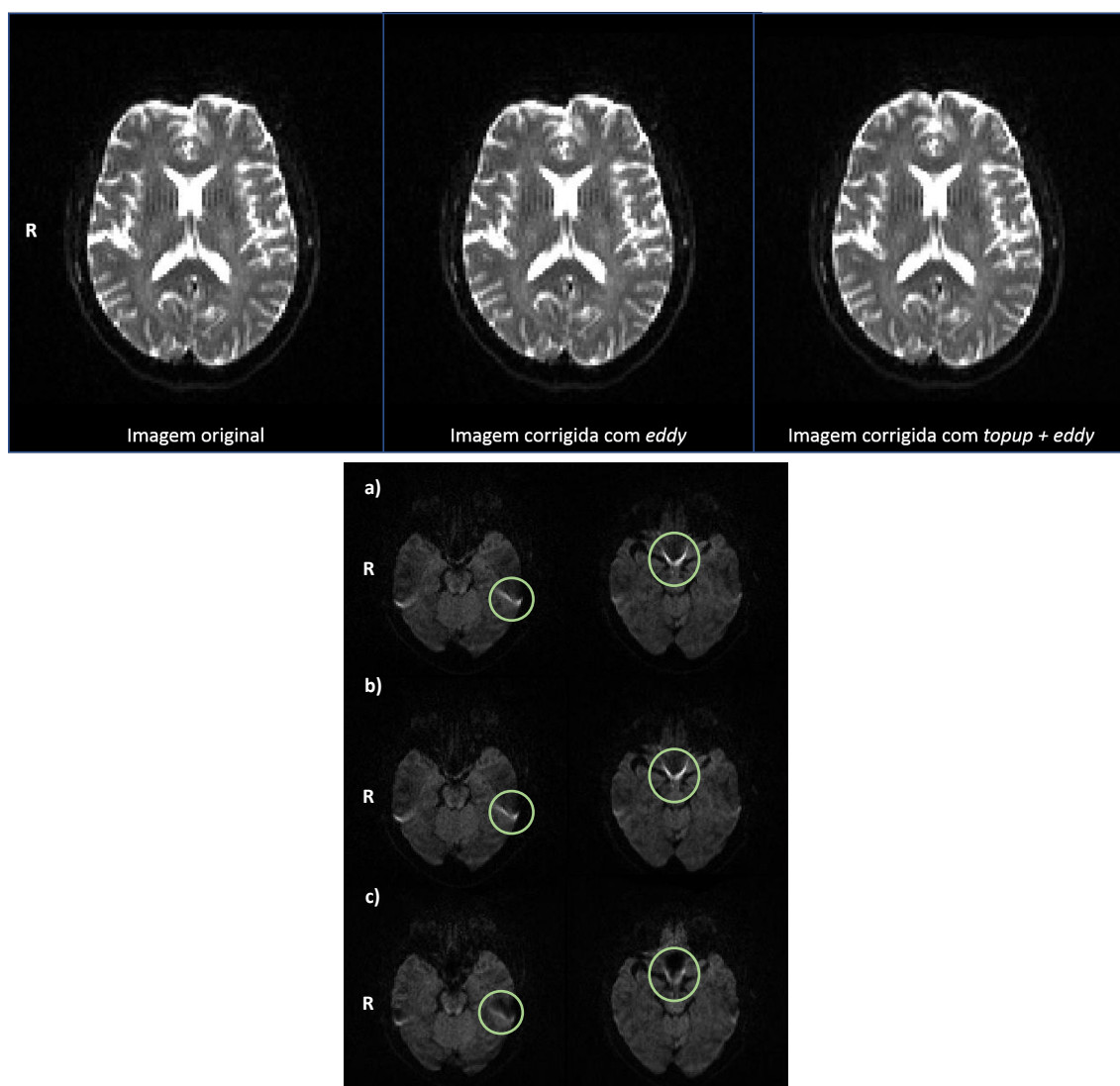


Figura 5.10: No topo observam-se os efeitos da correção de distorções das 2 ferramentas testadas (*eddy* e *topup* + *eddy*) em comparação com a imagem sem correções - Volume=0. Na linha inferior, os círculos a verde marcam regiões com presença de artefactos de susceptibilidade magnética. a) Imagem original; b) Imagem corrigida apenas com *eddy*; c) Imagem corrigida com *topup* + *eddy*. De notar que a opção de correção c) é a que mais minimiza a presença de artefactos.

Posteriormente, o ajuste do tensor de difusão foi aplicado de acordo com a função *dtifit* do FSL e comparou-se o ajuste numa zona de referência (corpo caloso) em três situações diferentes: (1) Ajuste do tensor de difusão numa imagem sem correções; (2) Ajuste do tensor de difusão numa imagem apenas com a correção do *eddy* e (3) Ajuste do tensor de difusão numa imagem com correção *topup* + *eddy*. Numa análise visual, tendo como referência o corpo caloso, por comparação com um atlas anatómico [104] verificou-se que as direções do vetor próprio principal da imagem corrigida com *topup* + *eddy* mostraram maior aproximação. No entanto, o protocolo usado não contemplou a aquisição dos dois tipos de imagem, inviabilizando a utilização do *Topup*.

• Eddy

1. Método e requisitos

A ideia subjacente ao algoritmo de correção *eddy* [114] está assente em dois passos: (1) Geração de uma imagem estimada e (2) Comparação entre a imagem estimada e a imagem real. De um modo geral, o esquema 5.11 ilustra o conjunto de transformações inerentes ao algoritmo do *eddy*. O algoritmo começa por iterar sobre o primeiro volume, e utilizando as estimativas dos campos de *off-resonance* (*topup*, correntes parasitas e movimento do sujeito) corrige as distorções da imagem. De seguida, esta imagem é comparada com a previsão produzida pelo algoritmo. No passo seguinte, são usadas as estimativas atuais dos campos para inverter as transformações da imagem prevista. No espaço do sujeito, compara-se a imagem estimada com a imagem real obtida. Usa-se a diferença entre as duas para atualizar as estimativas dos campos. O algoritmo pode iterar até concluir que a diferença entre as duas imagens foi minimizada. Este processo é implementado para todos os volumes. Uma das vantagens de integrar as correções das distorções todas num algoritmo (*eddy*) é que apenas é necessário fazer uma re-amostragem da imagem. Contudo, se não for fornecido resultados das correções de susceptibilidade com o *topup*, o algoritmo tem a capacidade de operar sem essa informação corrigindo apenas as distorções induzidas pelas correntes parasitas e pelo movimento do sujeito, a imagem resultante terá ainda distorções de susceptibilidade.

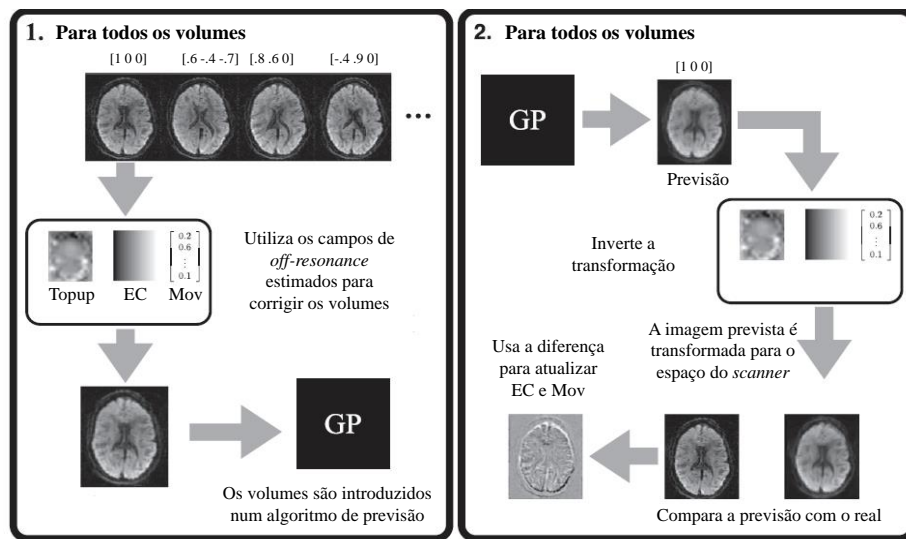


Figura 5.11: Esquema ilustrativo dos passos de cada iteração do algoritmo de correção. 1) Fase de previsão e 2) Fase de estimativa [Baseado no esquema apresentado no próprio tutorial - teórico (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fslcourse/lectures/fdt1.pdf> acedido a 24/02/2017) e [114]]. EC=Correntes parasitas; Mov=Movimento

Contudo, o algoritmo pressupõe alguns requisitos para aumentar a sua eficácia e para suportar os próprios modelos de estimativa [114]. Primeiro, requiere-se que as direções de aquisição dos volumes tenham sido adquiridas em toda a esfera (ver <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/EDDY>). No entanto, nas sequências convencionais de difusão o procedimento comum é adquirir direções em apenas metade da esfera. No caso do *dataset* analisado nesta tese, as direções foram apenas adquiridas em metade da esfera (ver secção 5.5.1). Além disso, requiere-se a aquisição de duas sequências de imagens com direção de codificação de fase inversas para aplicar o *topup* integrado na função *eddy*. Tal como visto anteriormente, esse requisito não foi planeado no protocolo de aquisição das imagens em análise.

Tal como visto na secção 5.5.1, optou-se por implementar conjuntamente com a função *eddy* a opção extra *repol* (*replace outliers*). Esta opção pretende compensar as perdas de sinal em determinados cortes ou parte deles resultantes do movimento do sujeito ou pulsatilidade cardíaca durante a codificação de fase. É importante ter em consideração esta correção para a comparação entre grupos, uma vez que, a sua ausência pode ser uma fonte de falsos positivos entre grupos que têm mais propensão ao movimento comparativamente a outros. O método associado baseia-se na comparação da intensidade de um corte com a intensidade dos vizinhos. Pressupondo que se visualmente inspecionarmos as imagens conseguimos facilmente detetar perdas de sinal por comparação com os

cortes vizinhos. Assim a detecção de perdas de sinal é feita por comparação com uma previsão do sinal. Para cada *voxel* uma previsão é obtida, posteriormente, uma diferença negativa entre a estimativa e o real é indicativa da existência potencial de *outliers*. Um sumário estatístico desta diferença é obtido para o corte todo, de onde se extrai a média e o desvio-padrão. A decisão final de classificação como *outlier* obtém-se por comparação de um *z-score*³, com um valor arbitrário, por exemplo, 3 ou 4 vezes superior ao desvio-padrão. Em relação ao esquema 5.11 um passo adicional é integrado no final do algoritmo do *eddy* onde uma lista dos cortes com os *outliers* encontrados é preenchida, e sempre que um corte for classificado como tal é substituído pela correspondente estimativa e adicionado à lista.

2. Implementação

A função *eddy* foi implementada com os parâmetros *default* adicionando a opção extra *repol*. A figura 5.12 é representativa da implementação da função *eddy*. A DWI é referente ao conjunto de todos os volumes adquiridos com a direção de codificação de fase anterior-posterior. A máscara foi obtida com recurso à ferramenta BET (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/BET/UserGuide>) do FSL com os seus parâmetros *default*. Contudo esta não foi extraída com base na imagem corrigida para artefactos de susceptibilidade como sugerido pelo tutorial, uma vez que, esta correção não foi implementada nestas imagens. Por sua vez, a máscara foi obtida a partir do DWI sem correções. O ficheiro *index* corresponde a uma linha de repetições do valor 1, num total correspondente ao número de volumes da imagem DWI, indicando que todos os volumes foram adquiridos segundo as condições explícitas na primeira linha do ficheiro *acqparams*. Os parâmetros de aquisição são indicativos da direção de codificação de fase e do tempo total de leitura. O ficheiro *bvecs* contém as direções de aplicação dos gradientes para cada volume e a informação é completada com o ficheiro *bvals* onde se regista o valor do factor-b para cada gradiente. Por fim, a opção *repol* ativa a função de detecção e correção de *outliers* relacionados com a perda de sinal. A opção *fwhm* impede que seja aplicado qualquer suavização de sinal e a opção *flm* indica que se assume o modelo quadrático na estimativa das correntes parasitas. Os resultados obtidos através do *eddy* foram visualmente inspecionados no *FSLView* usando o modo de vídeo para confirmar as respetivas correções de movimento e de correntes parasitas. Além disso, o modo *LightBox* foi usado para verificar as correções da opção *repol*, usando como termo de comparação a imagem original sem correções.

³*z-score* - obtém-se subtraindo pela média e dividindo pelo desvio-padrão. Mede quantos desvios-padrão acima ou abaixo da média um determinado valor está [115].

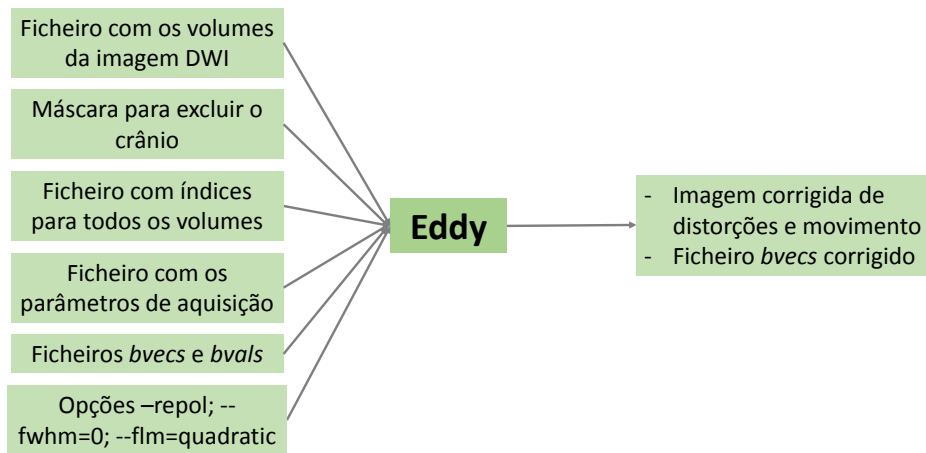


Figura 5.12: Conjunto de entradas fornecidas à função *eddy* e respectivas saídas. No caso de movimento do sujeito pode ocorrer rotação em torno de alguns eixos, levando a uma inconsistência em relação às direções de ponderação de difusão (*bvecs* original). Esta inconsistência é corrigida e na análise subsequente usa-se o ficheiro *bvecs* corrigido [Baseado no esquema apresentado no próprio tutorial prático (21/08/2017)].

5.5.3 Ajuste do tensor de difusão

Uma vez corrigidas as imagens quanto a distorções geométricas e artefactos, o passo seguinte consiste no ajuste do tensor de difusão.

1. Método

A estimativa do tensor de difusão a partir da ferramenta *dtifit* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FDT/UserGuide>) é feita com um modelo linear por ajuste dos mínimos quadrados [116].

2. Implementação

A implementação da ferramenta *dtifit* está esquematicamente representada na figura 5.13. A imagem de entrada é a corrigida previamente pelo *eddy* e a máscara utilizada foi igualmente obtida no passo anterior. Em termos das imagens produzidas, DTI_FA corresponde ao mapa de FA e DTI_MD ao mapa de MD, e a imagem DTI_V1 corresponde ao conjunto de vectores próprios principais de cada *voxel*, que por hipótese se assume paralelo à direção do tracto nervoso correspondente. O ajuste obtido para cada sujeito foi inspecionado visualmente no *FSLView*, sobrepondo à imagem de entrada as direções do vetor próprio principal obtidas através do *dtifit*, contidas no ficheiro DTI_V1, e por comparação com os pressupostos anatómicos validou-se a qualidade do ajuste obtido.

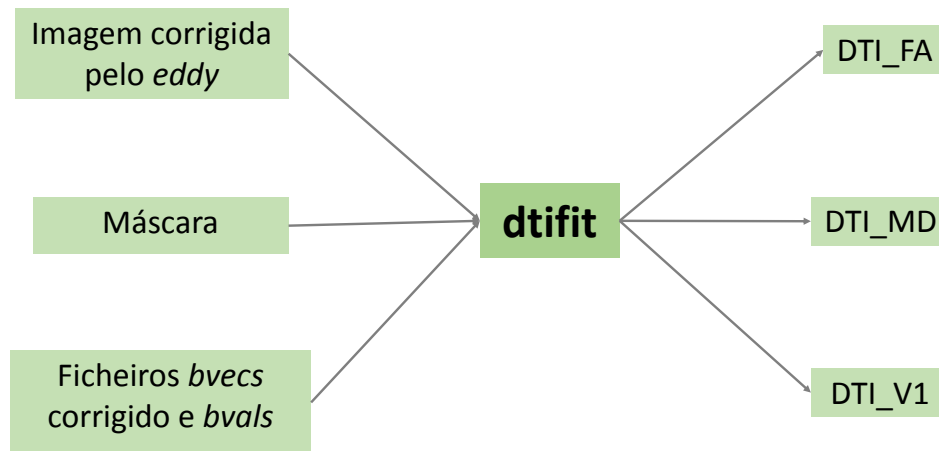


Figura 5.13: Conjunto de entradas fornecidas à função *dtifit* e respectivas saídas [Baseado no esquema apresentado no próprio tutorial prático (21/08/2017)].

De notar que, inerente ao processo de estimativa do tensor implementado verificou-se que alguns *voxels* apresentam valores de FA superiores a 1. O valor teoricamente não tem sentido, uma vez que, o índice de FA é normalizado entre 0 e 1. Estas situações podem acontecer nas zonas da periferia onde a SNR é menor e por contaminação de artefactos. Como a função do *dtifit* não restringe os vectores próprios a serem positivos, verifica-se nessas condições valores próprios negativos que se traduzem em valores de FA superiores a 1. Este problema foi tido em consideração, e equacionado um passo extra de correção destes valores. No entanto, de acordo com a documentação do FSL ([https://www.jiscmail.ac.uk/?subject:FA map with brain voxels of intensity 0 or >1](https://www.jiscmail.ac.uk/?subject=FA%20map%20with%20brain%20voxels%20of%20intensity%200%20or%20%3E1)) a ausência de correção destes valores não afeta os passos seguintes da análise de DTI, pelo que optou-se por não adicionar esse passo de correção.

5.5.4 Projeção do esqueleto

A projeção do esqueleto inerente ao método TBSS disponível no FSL pressupõe a aplicação de 4 passos: (1) *tbss_1_preproc*; (2) *tbss_2_reg*, (3) *tbss_3_postreg* e (4) *tbss_4_prestats*. O primeiro passo aplica uma erosão aos mapas de FA, obtidos do passo anterior, para remoção de arestas do crânio presentes na imagem e para evitar a presença de *outliers* provenientes do ajuste do tensor de difusão. O passo seguinte é o registo da imagem num espaço *standard* para permitir comparações entre sujeitos. Neste ponto, optou-se por fazer um registo com o programa *Ants*, uma vez que, comparativamente ao método de combinação de

FNIRT com FLIRT, o primeiro mostrou melhores resultados. Por fim, os passos restantes são referentes à construção do esqueleto de FA.

5.5.4.1 Registo das imagens

O registo dos mapas de FA foi feito em dois passos. No primeiro aplicou-se uma transformação não-linear para o *template* do FSL recomendado, isto é, *FMRIB58_FA_1mm* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Atlases>). Usando para tal efeito um *script* implementado no programa *Ants*. Uma vez no espaço do *template* as imagens de todos os sujeitos foram registados num espaço *standard - MNI_1mm_brain* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Atlases>) usando a ferramenta FLIRT. A figura 5.14 ilustra este procedimento.



Figura 5.14: Conjunto de transformações implementadas no processo de registo de imagens. Na primeira fase, aplica-se uma transformação não-linear com o *Ants* para um *template*. Na segunda fase, aplica-se uma transformação linear para o espaço *standard* MNI com a ferramenta FLIRT do FSL.

• Passo 1: Registo não-linear

O método de registo não-linear do *Ants* é baseado na teoria de difeomorfismo, onde é aplicado uma transformação SyN (*Symmetric Normalization*). Genericamente, o processo usado assume três componentes: (1) Modelo de transformação; (2) Medidas de correspondência e (3) Estratégia de otimização (ver [103] para mais detalhe). Para a implementação do algoritmo é necessário fornecer uma imagem de referência (*template*), uma imagem a alinhar que será transformada para se parecer o mais possível com a imagem de referência. Como saída da função obtemos uma imagem registada no espaço do *template* e respetivas matrizes de transformação (Fig. 5.15).

• Passo 2: Registo linear

Para o registo da imagem resultante no espaço *standard* uma transformação linear com 6 graus de liberdade foi aplicada através do FLIRT (Fig. 5.16). Os restantes parâmetros usados foram os estabelecidos por *default*. De salientar que os mapas de MD foram igualmente registados no espaço *standard* com base no procedimento anterior, ou seja, aplicando diretamente os ficheiros com as transformações correspondentes obtidos do registo dos mapas de FA.

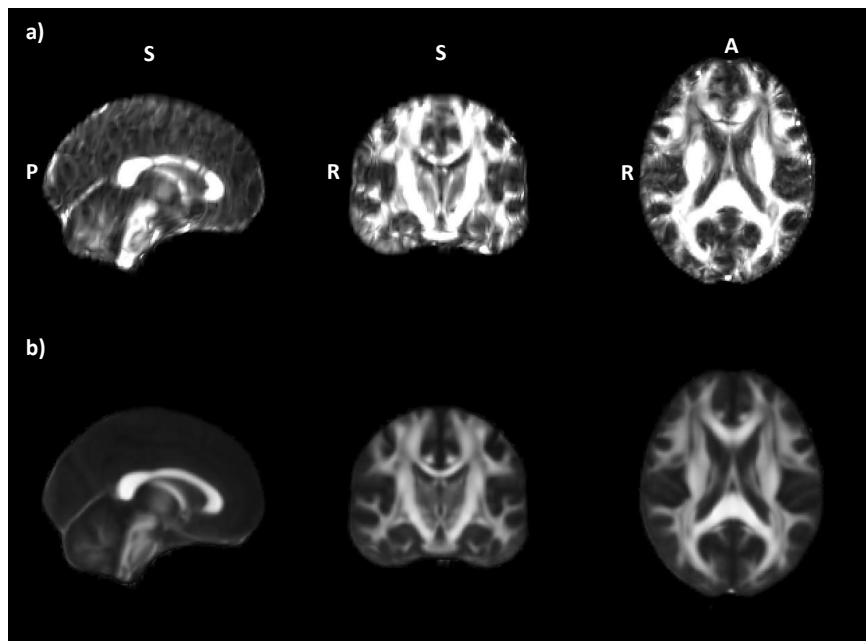


Figura 5.15: Resultados do registo não linear com o programa *Ants*. a) Exemplo de um mapa de FA registado no espaço do *template*; b) *Template* de FA do FSL. Sujeito=026

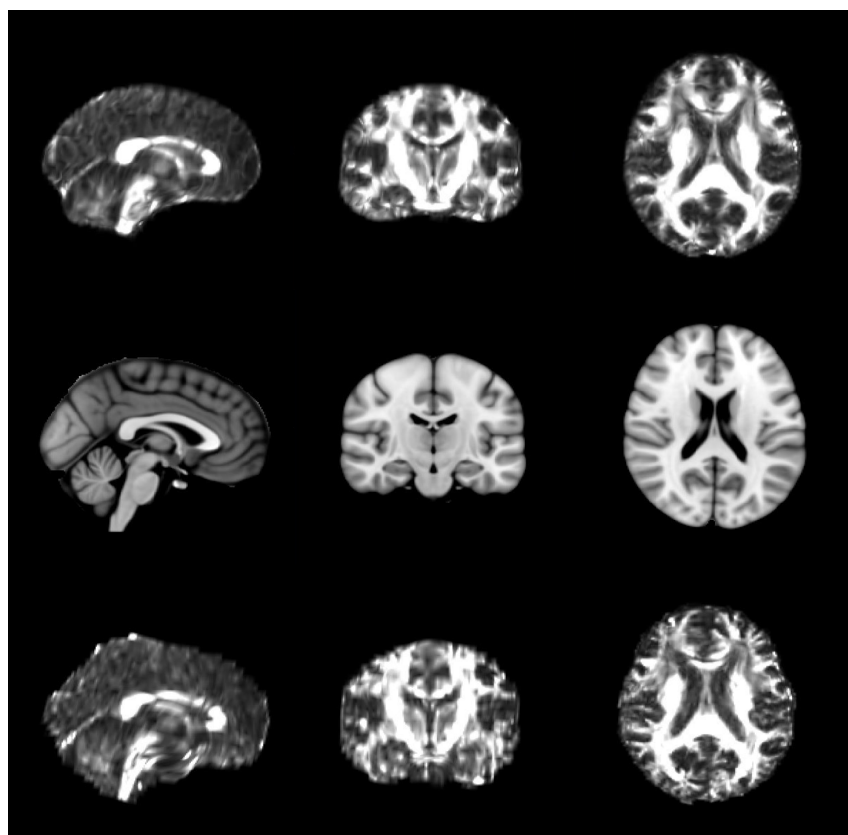


Figura 5.16: Registos dos mapas de FA para o espaço MNI. a) Exemplo de um mapa de FA registado no espaço MNI; b) *Template* MNI; c) Registo FNIRT + FLIRT. Sujeito=026

5.5.4.2 Esqueleto de FA e MD

Após o registo de todos os indivíduos no espaço MNI a construção do esqueleto de FA sucede-se implementando o método do TBSS.

1. Método

O TBSS tem como vantagem a análise localizada das alterações microestruturais, o que permite identificar os principais tractos afetados. O algoritmo disponível no FSL estima "um esqueleto de grupo" de FA (Fig. 5.17), que é representativo do centro dos principais tractos nervosos. A média entre todos mapas de FA resulta numa imagem com a média de FA que depois é processada num algoritmo para criar o esqueleto representativo dos tractos "comuns" (*tbss_skeleton*) a todos os sujeitos. Os valores de FA de cada indivíduo são projetados no esqueleto de FA médio. Neste processo, é feita uma pesquisa na direção perpendicular à estrutura local do esqueleto, assumindo-se como valor de FA para cada *voxel* o valor mais alto de FA. Uma vez construído o esqueleto é aplicado um limite inferior à intensidade de FA, normalmente entre 0.2 e 0.3, para restringir os *voxels* constituintes do esqueleto apenas aos que foram corretamente alinhados no passo de processamento anterior e para evitar influência da variabilidade entre sujeitos [117].

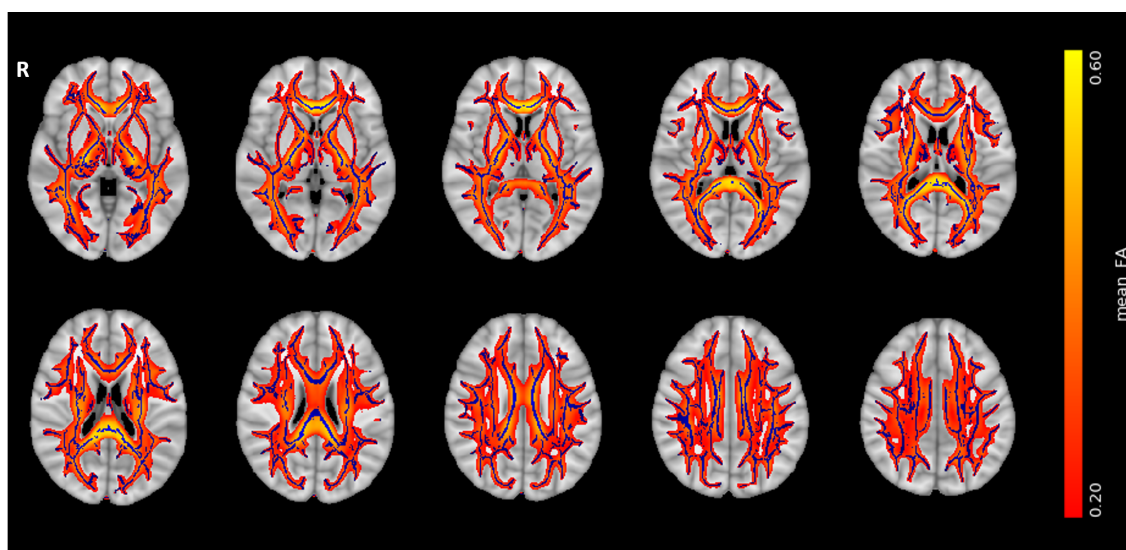


Figura 5.17: Exemplo da sobreposição da média de FA (vermelho) com um esqueleto de FA médio (azul) no espaço MNI.

2. Implementação

Dado que o passo de registo foi alterado, a implementação do TBSS não seguiu a sequência normal de *scripts* prevista pelo tutorial, tal como visto anteriormente. Deste modo, para a construção do esqueleto de FA foi extraída a parte do código correspondente do *script tbss_3_posreg* e aplicou-se um limite inferior de 0.2 à intensidade FA através do *script tbss_4_prestats*. O primeiro algoritmo cria um ficheiro designado *all_FA* onde junta os mapas de FA de todos os sujeitos, seguidamente a média de FA é calculada e o correspondente esqueleto é também derivado. O segundo algoritmo aplica o limite inferior, e projeta os valores de FA de cada sujeito no esqueleto médio (ficheiro *all_FA_skeletonised*).

5.6 Análise estatística

A análise estatística foi dividida em duas fases: (1) Análise das imagens dos esqueletos de FA e MD para avaliar as zonas onde existem diferenças significativas entre os 3 grupos, através um modelo linear geral (Glm) e (2) Correlação estatística das métricas de DTI com regressores de medidas estruturais e testes neuropsicológicos através de um modelo de regressão linear múltipla.

5.6.1 Análise cerebral global voxel a voxel: comparação entre grupos

As comparações *voxel a voxel* entre grupos, correspondentes à área do esqueleto, foram executadas usando testes de permutações com recurso à ferramenta *randomise* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Randomise>, [118]) do FSL que tem como saída um conjunto de imagens de valores-p. Para tal foi necessário definir um modelo de regressão através do desenho de uma matriz de regressores onde foram incluídas como covariáveis a idade e o nBV além dos grupos. Adicionalmente, foi igualmente estabelecida uma matriz de contrastes para estabelecer testes de comparação entre grupos. Nomeadamente, Controlo *vs.* CADASIL, Controlo *vs.* sSVD e sSVD *vs.* CADASIL, e ainda se investigou os efeitos positivos ou negativos das covariáveis consideradas para as diferenças encontradas entre grupos. A ferramenta *randomise* permite testes de inferência não-paramétricos baseados em permutações. Como tal, estabeleceu-se o valor de 10000 permutações (valor recomendado) e os valores-p foram corrigidos para comparações múltiplas usando o método TFCE (*Threshold-free cluster enhancement*). A escolha deste método baseia-se no facto de evitar a escolha de um limite arbitrário para a formação inicial do *cluster*, ao contrário de outros métodos de correção para comparações múltiplas. Assumiu-se como resultados significativos os valores-p inferiores a 0.05. Para efeitos de visualização, o *script*

TBSS_fill foi utilizado para aumentar a espessura das áreas com diferenças significativas.

5.6.2 Análise de métricas univariadas: relação com outras variáveis nos grupos de doentes

5.6.2.1 Histogramas de FA e MD

Uma análise de histogramas foi conduzida de forma complementar ao método TBSS. Os histogramas permitem avaliar a perda de integridade microestrutural e são sensíveis a variações em regiões de NAWM, podendo ser vantajosos para ensaios clínicos em que se testa a progressão ou reversão da doença. Uma vantagem em relação ao método TBSS é que estas métricas univariadas poderão ser mais sensíveis na análise de correlação com outras variáveis dos doentes. Outra vantagem é permitir uma visão global da distribuição das métricas. Contudo, a principal desvantagem é a perda de localização espacial [119, 120].

Para obter os histogramas foram utilizadas 4 máscaras em regiões de interesse: (1) Esqueleto do método TBSS; (2) Máscara da WM segmentada a partir da imagem MPRAGE; (3) Máscara da NAWM correspondendo à porção de WM sem lesões e (4) Máscara correspondente à área das lesões de WMH.

Os histogramas de frequência relativa de FA foram construídos com 1000 *bins*, limites 0-1 e largura do *bin* igual a 0.001. No caso dos histogramas de MD com limite entre 0-0.004 mm^2/s e largura do *bin* $0.004 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ [121]. As frequências relativas foram obtidas dividindo as contagens de cada *bin* pelo número total de *voxels* em cada máscara. A normalização dos histogramas pretendeu neutralizar a variabilidade entre sujeitos.

5.6.2.2 Extração das métricas dos histogramas

Foram extraídas dos histogramas as seguintes métricas: mediana, altura do pico e largura entre o 5° e 95° percentis. Estas métricas foram escolhidas devido a estudos anteriores terem mostrado resultados significativos com o estado cognitivo [10, 38, 121–124] (ver capítulo 4). No caso dos controlos saudáveis a nWMHLL foi considerada insignificante, pelo que a máscara WMH não foi considerada. A figura 5.18 é ilustrativa deste processo de extração de métricas no caso dos mapas de FA e MD usando os 4 tipos de máscaras. No apêndice B encontram-se dois exemplos da extração das métricas para um indivíduo saudável e para um doente com sSVD.

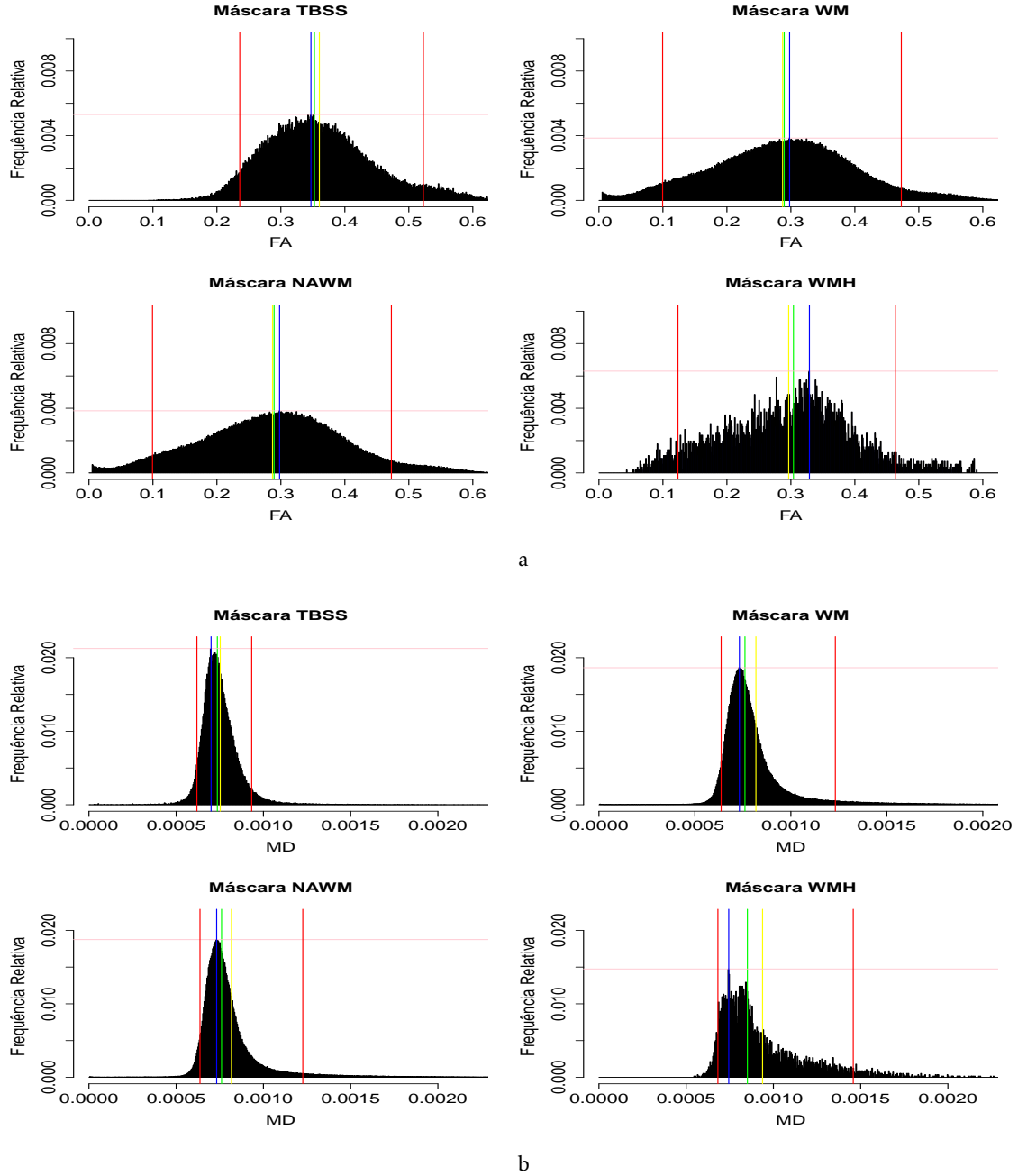


Figura 5.18: Extração de métricas do histograma (sujeito com CADASIL). (a) Histograma de FA; (b) Histograma de MD (mm^2s^{-1}). Para as máscaras TBSS, WM, NAWM e WMH extraiu-se os valores da média (amarelo), mediana (verde), altura do pico (rosa), largura entre o 5° e 95° percentis (vermelho) e valor do pico (azul).

5.6.2.3 Análise estatística das métricas

Uma análise de variância (do inglês, *Analysis of variance*, ANOVA) com dois fatores e medidas repetidas (medição repetida das várias métricas extraídas para um indivíduo variando a máscara) [125], foi conduzida para testar efeitos significativos para as métricas consideradas. Em concreto, os fatores correspondem ao grupo (Controlos, sSVD e CADASIL) e à máscara (TBSS, WM, NAWM e WMH). O programa JASP (<https://jasp-stats.org/>), versão 0.8.2, foi utilizado para construir o modelo estatístico (Fig. 5.19). Para esta análise apenas foram considerados os efeitos das máscaras TBSS, WM e NAWM, uma vez que a máscara WMH não foi considerada para todos os grupos (faltando os controlos), e mesmo nos grupos de doentes continha tipicamente um número de *voxels* muito inferior aos das outras máscaras (sendo por isso pouco representativa). Seguidamente, para os casos em que foram encontrados efeitos principais dos fatores significativos executaram-se testes de comparação *Post-hoc*, com correção *Bonferroni* para comparações múltiplas.

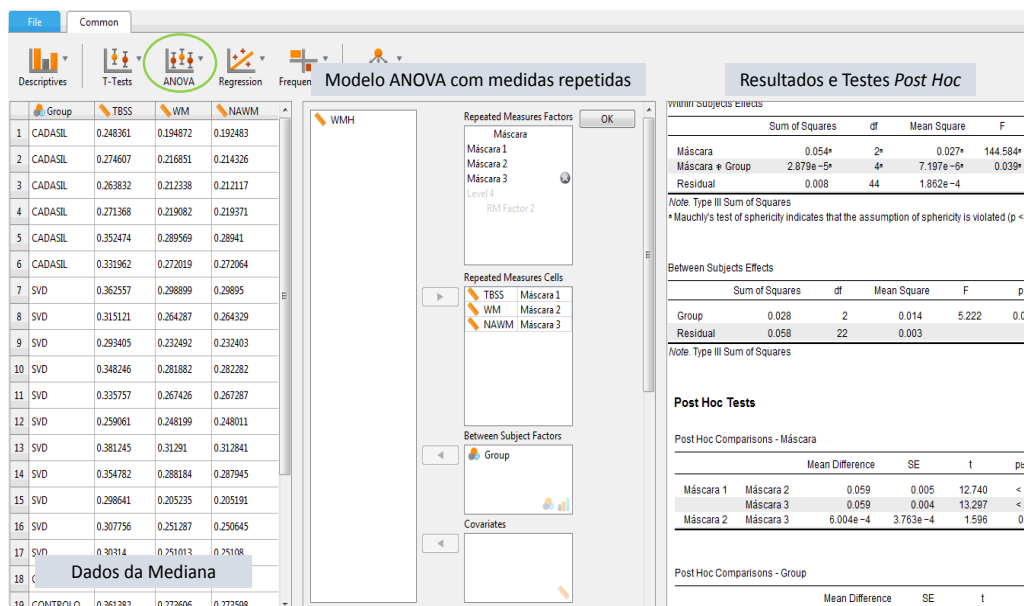


Figura 5.19: Ilustração da construção do modelo de análise de variância através do programa JASP. À esquerda são introduzidos os dados das medidas repetidas para cada sujeito (cada máscara). Ao selecionar a opção *ANOVA repeated measures* constrói-se o modelo, onde são depois executados testes *Post hoc* caso se encontrem efeitos significativos no primeiro passo. Por fim, os resultados obtidos são apresentados no painel à direita.

Em seguida, efetuou-se uma análise do poder explicativo por parte das métricas extraídas dos histogramas, do desempenho cognitivo dos doentes. Para tal, foram definidos modelos de regressão linear múltipla explicativos do desempenho dos doentes nos testes neuropsicológicos para os domínios cognitivos considerados

(secção 5.2) usando-se como covariáveis idade, nBV, nWMHLL, mediana, altura do pico e largura do pico entre o 5° e 95° percentis de FA e MD. Para tornar comparável as covariáveis em competição nos modelos os valores de cada covariável foram transformados em *z-scores*. Testes *Shapiro-Wilk* [126] foram conduzidos para testar a normalidade das covariáveis. As distribuições não normais, mais concretamente nBV, TMT_A e largura entre os percentis de MD com a máscara TBSS, foram transformadas através do logaritmo. Usou-se a função *lm* [127] para aplicar os modelos de regressão.

Um método *stepwise* [128] foi implementado para identificar o modelo ótimo consistindo no sub-conjunto de covariáveis que melhor explicam os efeitos cognitivos. Nesta função, várias combinações de covariáveis são testadas sistematicamente e o valor mínimo do critério *Akaike Information Criterion* (AIC) é usado para selecionar o modelo com melhor ajuste.

6 | Resultados

Neste capítulo os principais resultados das análises estatísticas descritas no capítulo anterior são expostas em duas secções: (1) Análise global: comparação entre grupos (secção 5.6.1) e (2) Análise de métricas univariadas: relação com outras variáveis nos grupos de doentes (secção 5.6.2).

6.1 Análise global: comparação entre grupos

A análise global dos esqueletos individuais de cada sujeito permitiu identificar diferenças nos mapas de FA e MD entre os diferentes grupos. Tendo em conta que o índice de FA é quantitativo da direcionalidade da difusão nas fibras nervosas e em condição de patologia é expectável que este valor diminua derivado da perda de coerência na direção preferencial de difusão. Por outro lado, o índice de MD é indicativo da média da difusão em todas as direções, pelo que se supõe que em condições patológicas a degradação das estruturas possa traduzir-se em menos obstáculos à difusão que se revelam num aumento deste índice [42]. Os resultados desta análise foram indicativos da existência de múltiplas áreas de alterações microestruturais significativas, nos grupos de doentes, representando como esperado uma redução dos valores de FA em paralelo com um aumento dos valores de MD. Dado que a carga lesional dos doentes com CADASIL é superior, seria expectável que em geral os CADASIL tivessem mais alterações do que os sSVD. Nas secções 6.1.1 e 6.1.2 apresentam-se os principais resultados para os mapas de FA e MD, respetivamente.

6.1.1 FA

O primeiro caso de comparação Controlo > sSVD foi revelador de diversas áreas onde os valores de FA dos doentes são significativamente inferiores, correspondendo principalmente aos tractos da WM, corpo caloso, tronco cerebral e diferenças em muito menor proporção foram encontradas ao nível do cerebelo (pedúnculos cerebelares superiores e inferiores) e no lobo temporal. Na figura 6.1 apresenta-se os resultados correspondentes. Por inspeção visual, é notável que as diferenças ocupam uma porção significativa do esqueleto, e uma análise mais exaustiva revelou alguma assimetria na localização das diferenças. Em particular, os tractos da WM envolvidos correspondem à cápsula interna e externa (lado esquerdo praticamente todo englobado), fascículos longitudinais superiores, inferiores e fronto-occipital, tracto corticoespinhal, fascículo uncinado, radiações talâmicas anteriores, cíngulo giro, fórceps maior e menor, e fórnix ¹.

Por sua vez, a comparação Controlo > CADASIL revelou igualmente diversas áreas de redução de FA, ocupando, no entanto, praticamente toda a área do esqueleto. Especificamente, observou-se que as diferenças encontradas ao nível do tronco cerebral ocupava uma área superior, e grande parte do cerebelo

¹Os tractos foram identificados com recurso aos atlas disponíveis no FSL: *JHU-ICBM-DTI-White Matter Labels*, *JHU White-Matter Tractography Atlas*, *MNI Structural Atlas* e *Harvard-Oxford Cortical Structural Atlas* (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Atlases>)

mostrou diferenças significativas. Além disso, verificou-se ainda que a região anterior do lobo temporal mostrou mais zonas de diferenças significativas, do que na comparação anterior. Outra estrutura que também demonstrou a existência de alterações microestruturais foi o tálamo. Especificamente, as regiões de diferença mencionadas na comparação Controlo > sSVD também foram registadas nesta comparação, revelando ainda que praticamente toda a cápsula interna, o esplénio do corpo caloso e o centro semioval ocupavam uma maior área com diferenças significativas. A figura 6.2 é elucidativa da localização destas diferenças.

Por último, foram também diferenças na comparação sSVD > CADASIL, ocupando igualmente uma porção considerável do esqueleto médio de FA. Nesta situação as principais diferenças encontraram-se ao nível do cerebelo, lobo temporal anterior, tálamo, lobo occipital, e todos os tractos nervosos anteriormente mencionados mostraram-se envolvidos no esqueleto com diferenças, incluindo o corpo caloso e o tronco cerebral (Fig 6.3).

6.1.2 MD

Relativamente, aos mapas de MD diferenças significativas demonstrando um aumento da MD em relação aos Controlos foram encontradas na comparação CADASIL > Controlo e também se verificaram diferenças significativas na comparação CADASIL > sSVD. Especificamente, as figuras 6.4 e 6.5 são ilustrativas das regiões de diferença CADASIL > Controlo e CADASIL > sSVD, respetivamente. Em ambos os casos praticamente todo o esqueleto mostrou diferenças significativas em áreas que incluem cerebelo, tronco cerebral, lobo temporal anterior, corpo caloso e tractos da substância branca correspondentes aos já anteriormente mencionados. Mais ainda, encontraram-se efeitos positivos da idade (Fig. 6.6) numa porção menor do esqueleto e aparentemente assimétrica que englobava áreas como corpo caloso, tálamo e tractos da WM como cápsulas externas e internas, fascículos longitudinais superiores, inferiores e fronto-occipital, tracto cortiespinhal, fascículo uncinado, fórceps maior e menor, fórnix, cíngulo e radiação anterior do tálamo. Este efeito positivo da idade pode ser interpretado como as localizações em que o avançar da idade contribui para um aumento dos valores de MD [129].

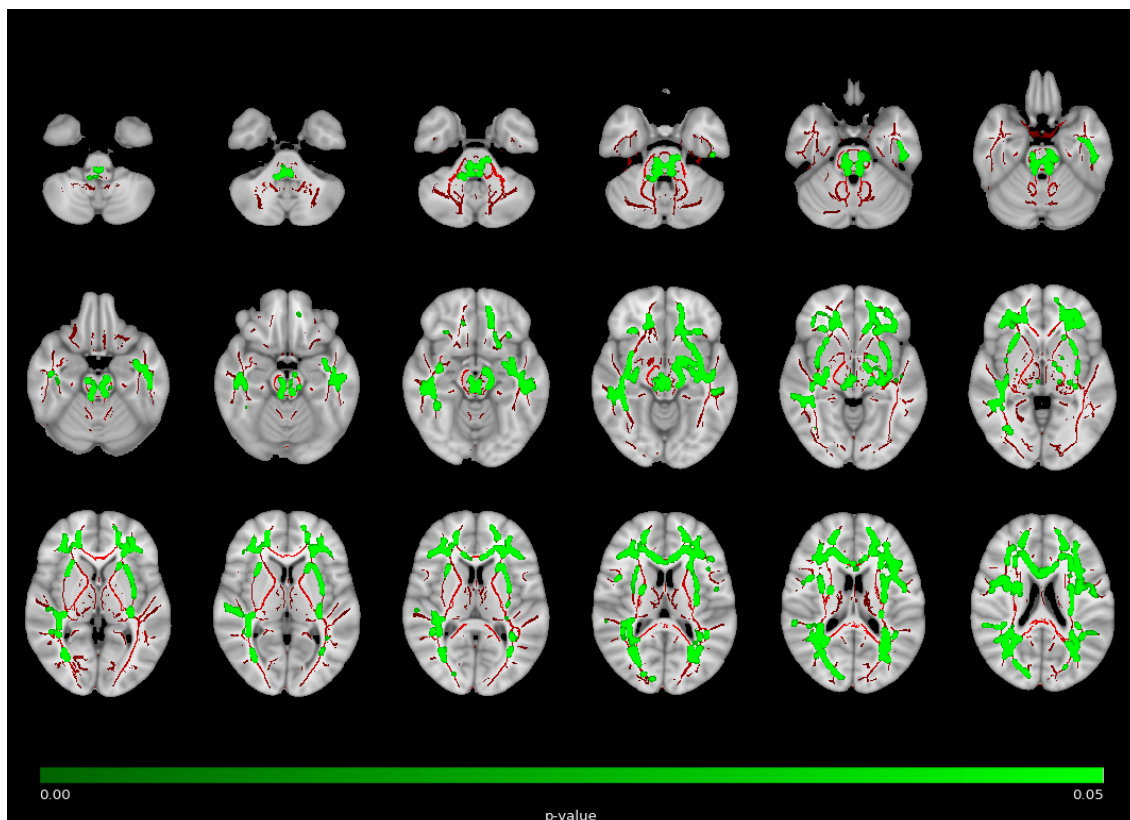


Figura 6.1: Análise do esqueleto de FA comparativa entre o grupo de indivíduos saudáveis e o grupo de doentes com sSVD (Controlo > sSVD). Conjunto de cortes axiais representativos de uma imagem T1WI no espaço MNI em sobreposição com o esqueleto médio de FA (vermelho), mostrando a verde as zonas de diferença significativa entre os dois grupos. As principais áreas identificadas incluem o corpo caloso, tronco cerebral e algumas diferenças em muito menor proporção foram encontradas ao nível do cerebelo (pedúnculos cerebelares superiores e inferiores), e no lobo temporal anterior, e tractos da WM, nomeadamente, cápsula interna e externa, fascículos longitudinais superiores, inferiores e fronto-occipital, tracto corticoespinhal, fascículo uncinado, radiações talâmicas anteriores, cíngulo, fórceps maior e menor, e fórnix.

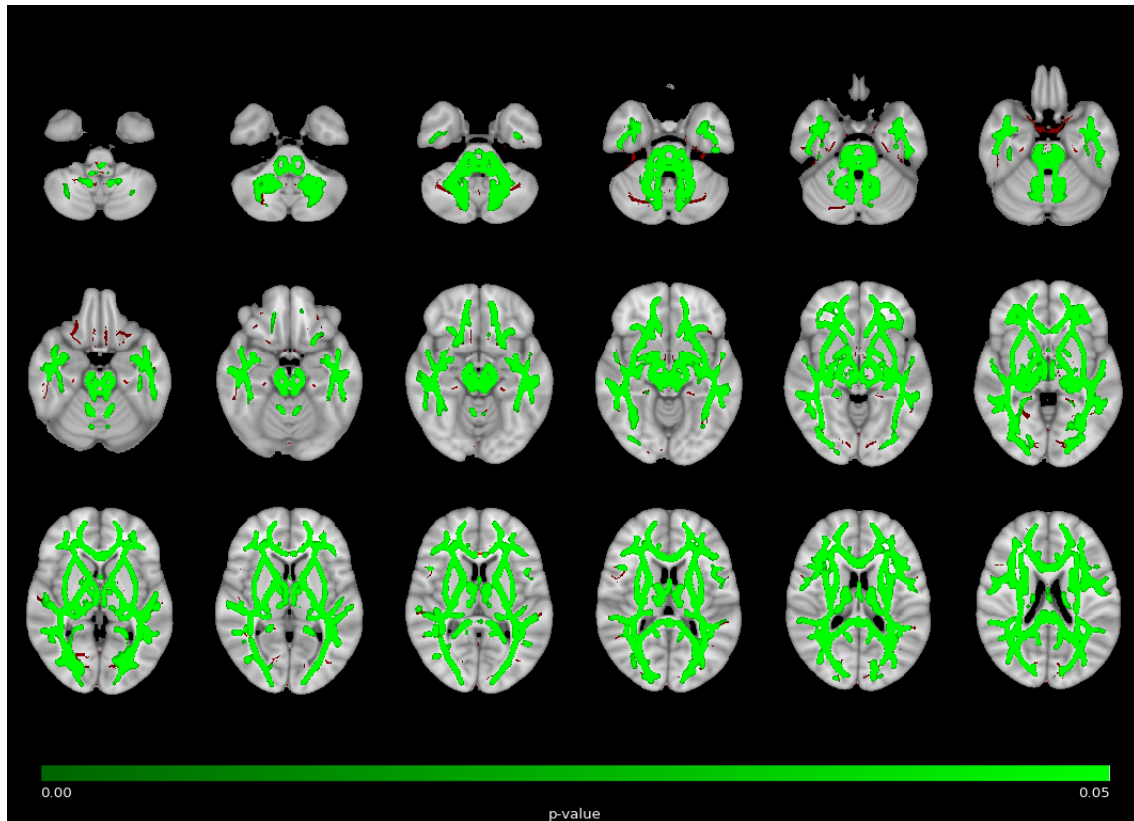


Figura 6.2: Análise do esqueleto de FA comparativa entre o grupo de indivíduos saudáveis e o grupo de doentes com CADASIL (Controlo > CADASIL). Conjunto de cortes axiais representativos de uma imagem T1WI no espaço MNI em sobreposição com o esqueleto médio de FA (vermelho), mostrando a verde as zonas de diferença significativa entre os dois grupos. As principais áreas identificadas incluem o tronco cerebral e cerebelo (pedúnculos cerebelares superiores, inferiores e médios), lobo temporal anterior, corpo caloso, tálamo e tractos da WM, nomeadamente, cápsula interna e externa, fascículos longitudinais superiores, inferiores e fronto-occipital, tracto corticoespinhal, fascículo uncinado, radiações talâmicas anteriores e posteriores, cíngulo, fórceps maior e menor, fórnix e coroa radiada anterior.

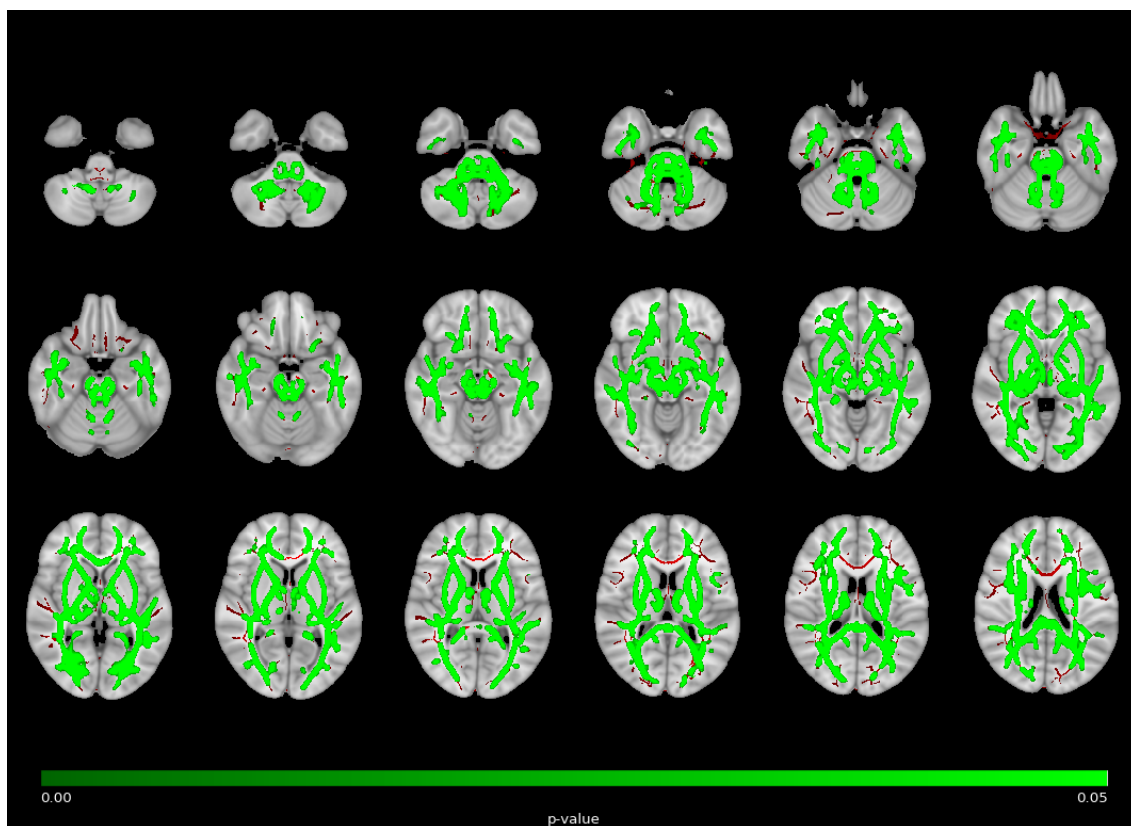


Figura 6.3: Análise do esqueleto de FA comparativa entre o grupo de doentes com sSVD e o grupo de doentes com CADASIL (sSVD > CADASIL). Conjunto de cortes axiais representativos de uma imagem T1WI no espaço MNI em sobreposição com o esqueleto médio de FA (vermelho), mostrando a verde as zonas de diferença significativa entre os dois grupos. As principais áreas identificadas incluem o corpo caloso, tálamo, cerebelo e tronco cerebral (pedúnculos cerebelares superiores e inferiores), e tractos da substância branca, nomeadamente, cápsula interna e externa, fascículos longitudinais superiores, inferiores e fronto-occipital, tracto corticoespinhal, fascículo uncinado, radiações talâmicas anteriores e posteriores, fórceps maior e menor, e fórnix.

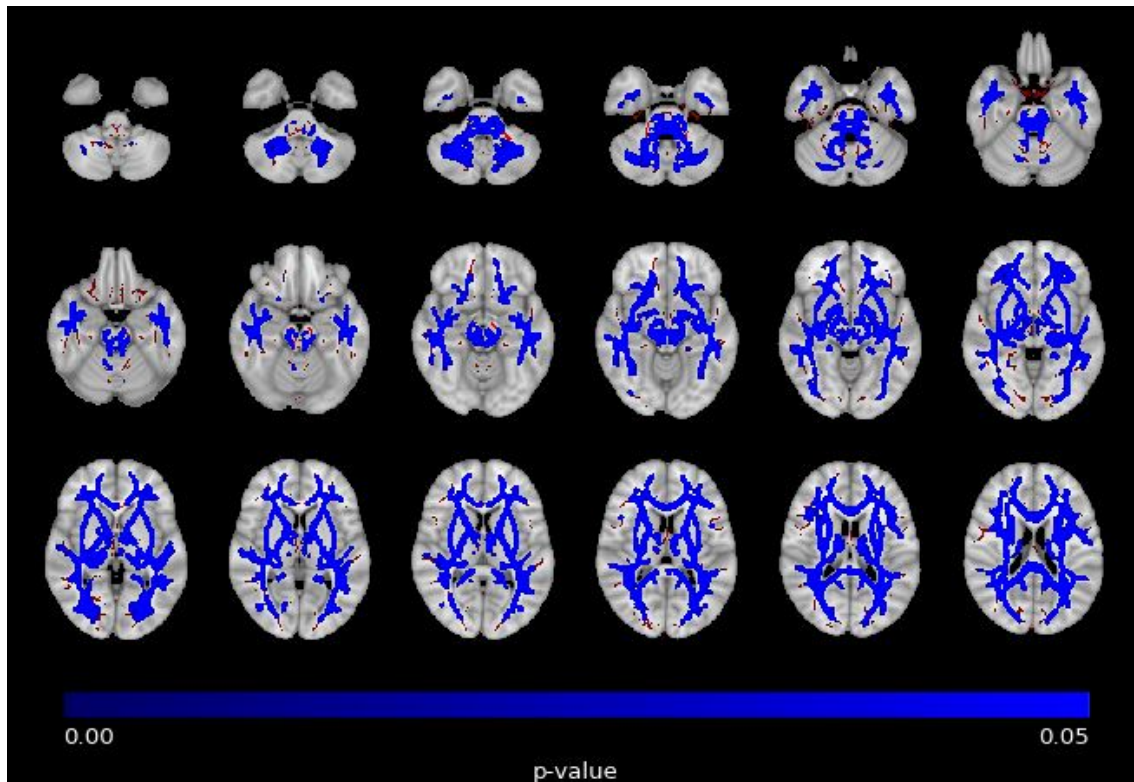


Figura 6.4: Análise do esqueleto de MD comparativa entre o grupo de doentes com CADASIL e o grupo de controlo (CADASIL > Controlo). Conjunto de cortes axiais representativos de uma imagem T1WI no espaço MNI em sobreposição com o esqueleto médio de MD (vermelho), mostrando a azul as zonas de diferença significativa entre os dois grupos. As principais áreas identificadas incluem o corpo caloso, tronco cerebral e cerebelo (pedúnculos cerebelares superiores e inferiores), tálamo, lobo temporal anterior, e tractos da WM, nomeadamente, cápsula interna e externa, fascículos longitudinais superiores, inferiores e fronto-occipital, tracto corticoespinhal, fascículo uncinado, radiações talâmicas anteriores, cíngulo giro, fórceps maior e menor, e fórnix.

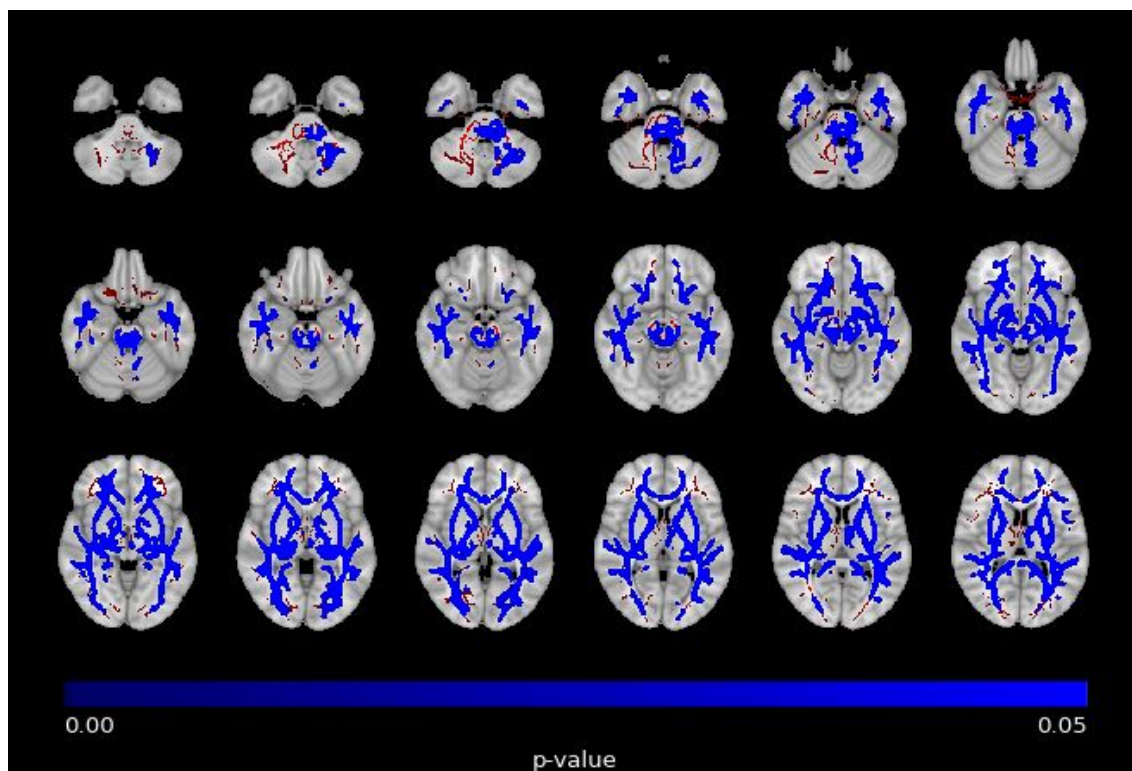


Figura 6.5: Análise do esqueleto de MD comparativa entre o grupo de doentes com CADASIL e o grupo de doentes com sSVD (CADASIL > sSVD). Conjunto de cortes axiais representativos de uma imagem T1WI no espaço MNI em sobreposição com o esqueleto médio de MD (vermelho), mostrando a azul as zonas de diferença significativa entre os dois grupos. As principais áreas identificadas incluem o corpo caloso, tronco cerebral e cerebelo (pedúnculos cerebelares superiores e inferiores), WM do lobo temporal, e tractos da WM, nomeadamente, cápsula interna e externa, fascículos longitudinais superiores, inferiores e fronto-occipital, tracto corticoespinhal, fascículo uncinado, radiações talâmicas anteriores, cíngulo, fórceps maior e menor, fórnix.

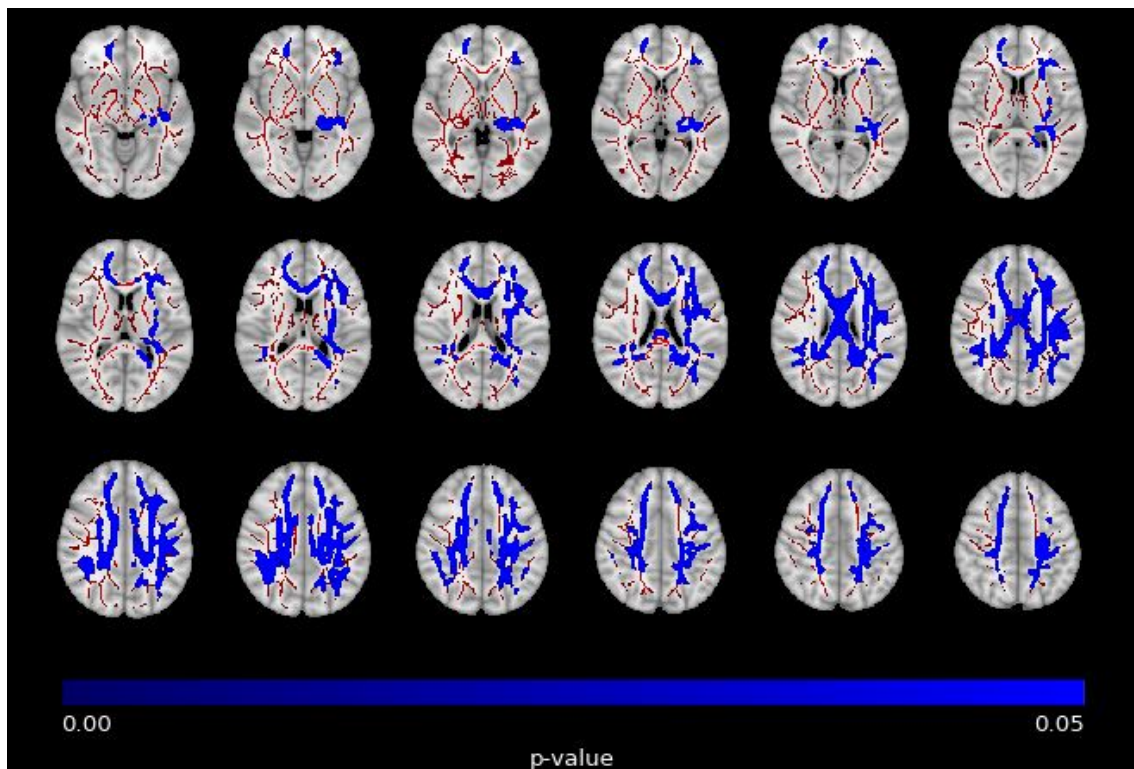


Figura 6.6: Efeito positivo da idade nas alterações de MD. Conjunto de cortes axiais representativos de uma imagem T1WI no espaço MNI em sobreposição com o esqueleto médio de MD (vermelho), mostrando a azul as zonas de diferença significativa entre os dois grupos. As principais áreas identificadas incluem o corpo caloso e tractos da WM, nomeadamente, cápsula interna e externa, fascículos longitudinais superiores, inferiores e fronto-occipital, tracto corticoespinhal, fascículo uncinado, radiações talâmicas anteriores, cíngulo giro, fórceps maior e menor, e fórnix.

Uma vez analisadas as localizações das principais alterações microestruturais entre os vários grupos, inferidas a partir dos mapas de FA e MD, hipotetizou-se que a sua localização poderia estar relacionada com a localização das lesões de WMH características da SVD. Como tal, investigou-se qual a percentagem do esqueleto onde foram encontradas diferenças entre doentes e controlos sobreposta com zonas de lesão para os casos: (1) Controlo > sSVD - FA; (2) Controlo > CADASIL - FA e (3) CADASIL > Controlo - MD. Também foi contabilizada a percentagem de esqueleto sem diferenças significativas sobreposto com as zonas de lesão. O resultado desta investigação é apresentado na figura 6.7. Uma análise do gráfico permite concluir que cerca de 32% das diferenças significativas encontradas na comparação CADASIL > Controlo (MD) apresentavam sobreposição com zonas de lesão, em contraste com apenas cerca de 12% das zonas do esqueleto sem diferenças significativas. Nos restantes casos considerados a tendência da relação das percentagens manteve-se. De salientar que na comparação Controlo > sSVD (FA) a percentagem de sobreposição foi próxima dos 36%. De seguida, as figuras ilustram a sobreposição (azul escuro) inerente entre o esqueleto de FA e MD (azul com transparência) e as zonas com WMH (verde), para os casos de comparação: (1) Controlo > sSVD (Fig. 6.8) - FA; (2) Controlo > CADASIL - FA (Fig. 6.8) e (3) CADASIL > Controlo - MD (Fig. 6.9).

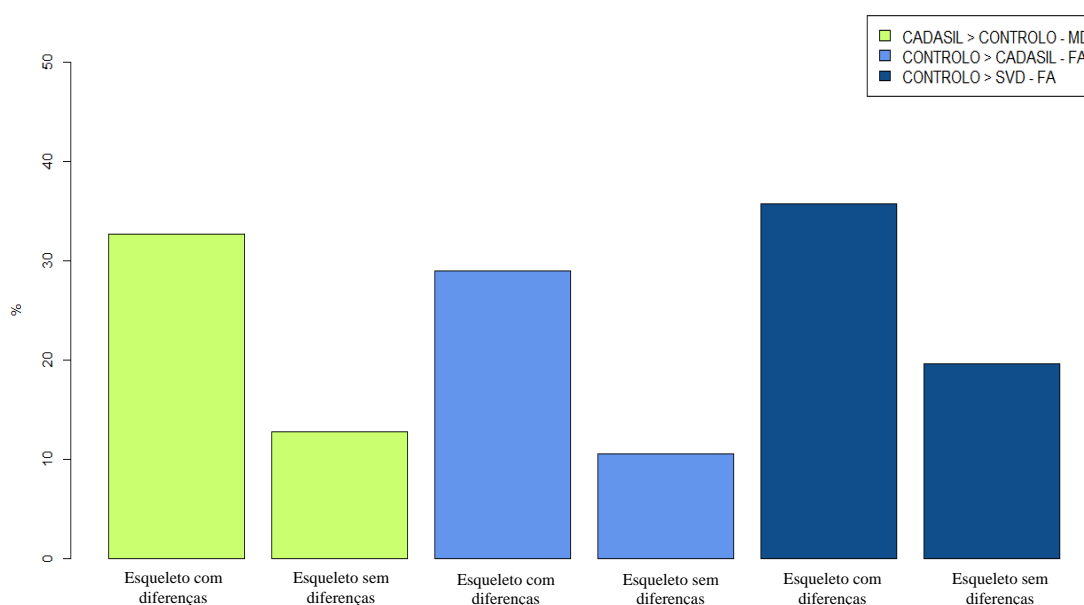


Figura 6.7: Gráfico representativo da percentagem de sobreposição entre zonas dos esqueletos com e sem diferenças significativas e zonas de lesões com WMH. Particularmente, os casos investigados correspondem a: (1) CADASIL > Controlo - MD (verde); (2) Controlo > CADASIL - FA (azul claro) e (3) Controlo > sSVD - FA (azul escuro).

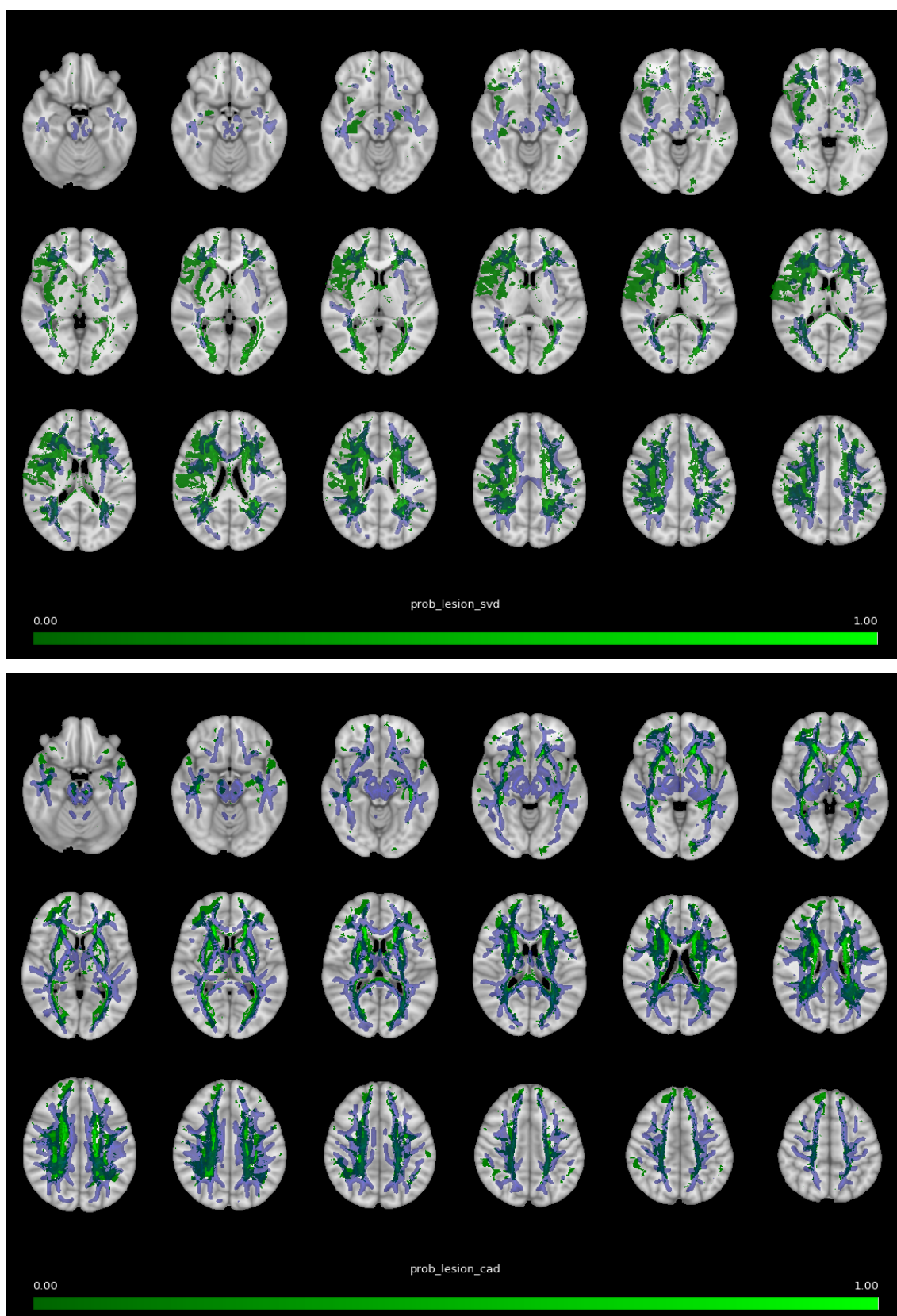


Figura 6.8: Sobreposição do esqueleto de FA (azul) com diferenças significativas entre grupos e a máscara das lesões de WMH (verde). No topo, as zonas azuis escuras denotam áreas de interseção no caso Controle > sSVD e, em baixo, no caso Controle > CADASIL.

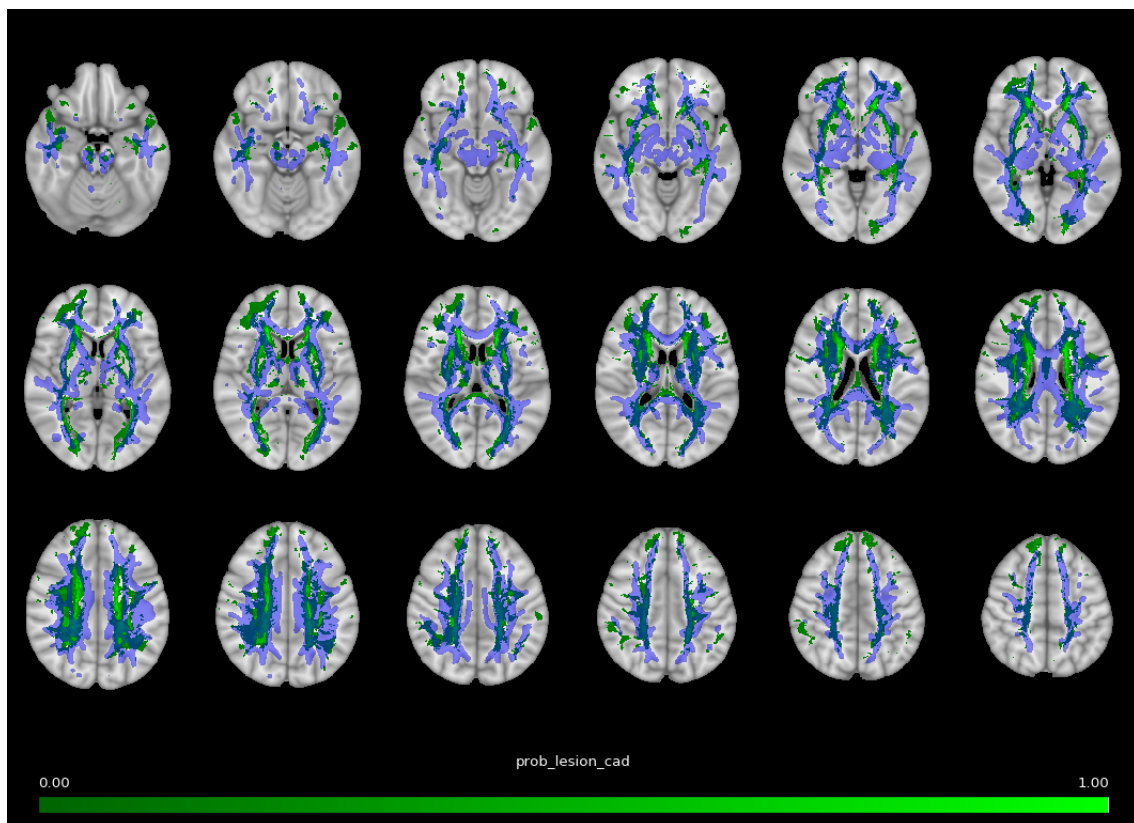
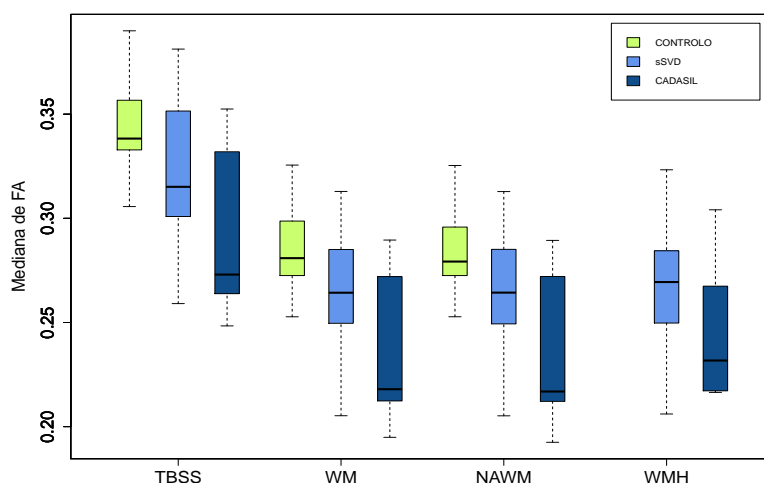


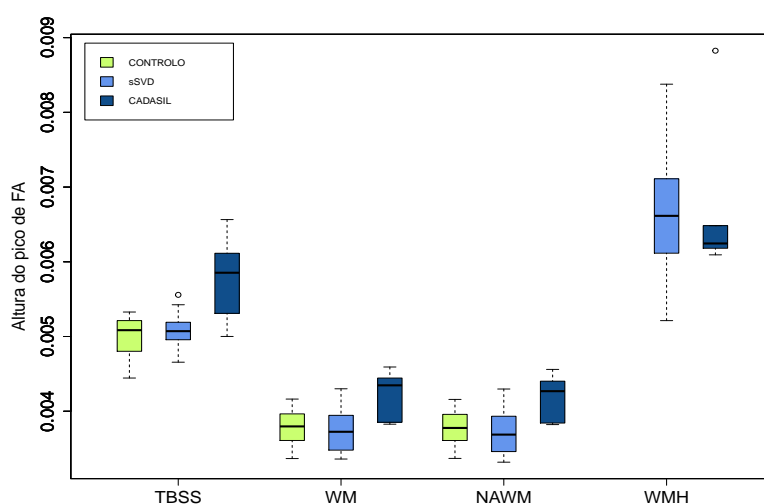
Figura 6.9: Sobreposição do esqueleto de MD (azul) com diferenças significativas entre grupos e a máscara das lesões de WMH (verde). As zonas azuis escuras denotam áreas de interseção no caso CADASIL > Controlo.

6.2 Análise de métricas univariadas: relação com outras variáveis nos grupos de doentes

As distribuições dos valores para a mediana, altura do pico e largura entre os percentis dos histogramas de FA e MD são ilustradas nas figuras 6.10 a 6.12.

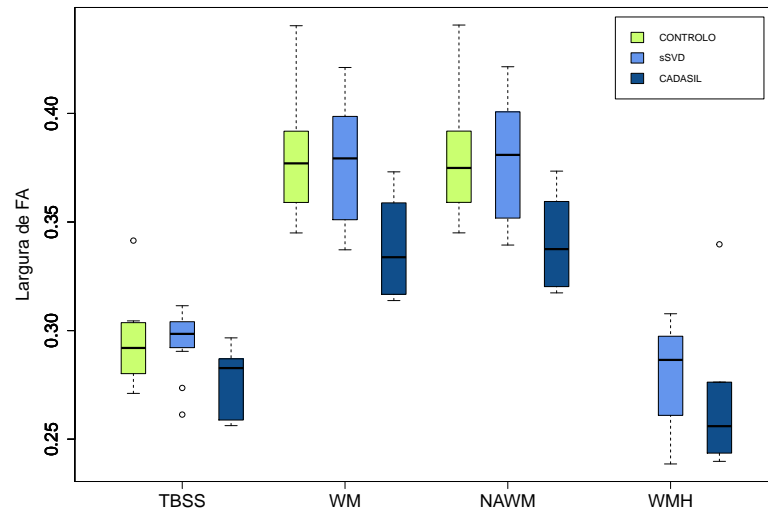


a

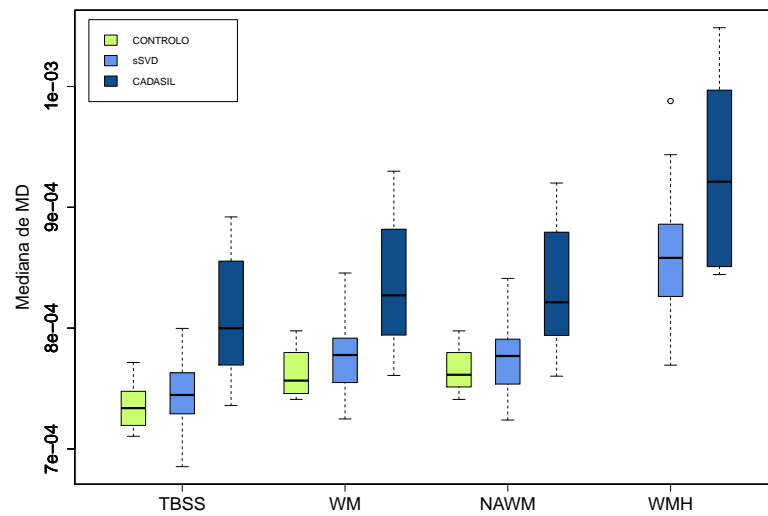


b

Figura 6.10: Distribuição das métricas de FA calculadas para cada máscara (TBSS, WM, NAWM e WMH) e para os 3 grupos de estudo (Controlo, sSVD e CADASIL). (a) Mediana do histograma de FA; (b) Altura do pico do histograma de FA. A linha horizontal do *boxplot* indica a mediana da distribuição, os extremos correspondem ao valor mínimo e máximo. O retângulo do *boxplot* representa 50% da distribuição (entre os quartis 25 e 75).



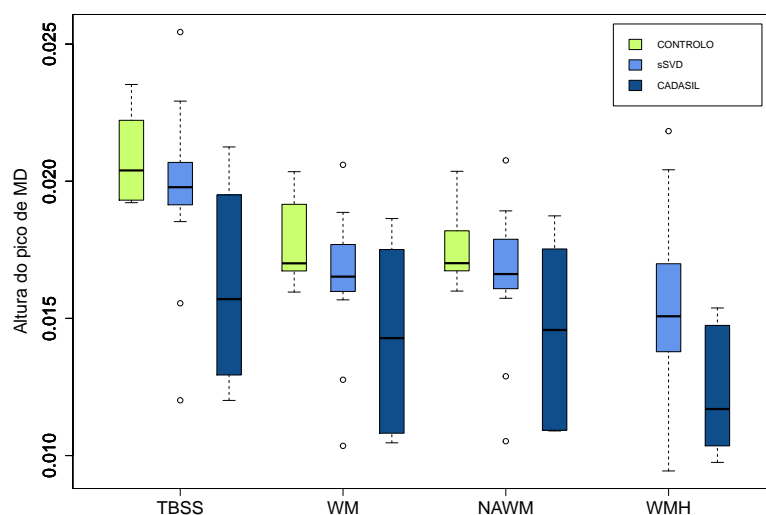
a



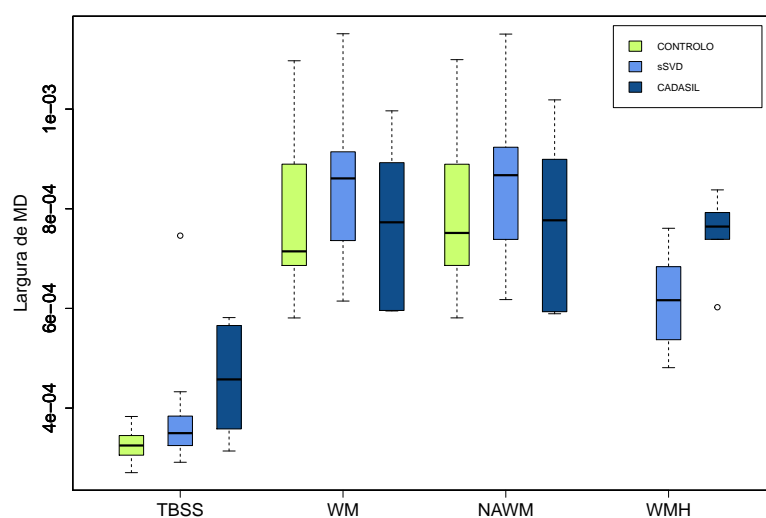
b

Figura 6.11: Distribuição das métricas de FA e MD calculadas para cada máscara (TBSS, WM, NAWM e WMH) e para os 3 grupos de estudo (Controlo, sSVD e CADASIL). (a) Largura do histograma entre o 5° e 95° percentis de FA; (b) Mediana do histograma de MD. A linha horizontal do *boxplot* indica a mediana da distribuição, os extremos correspondem ao valor mínimo e máximo. O retângulo do *boxplot* representa 50% da distribuição (entre os quartis 25 e 75).

6.2. ANÁLISE DE MÉTRICAS UNIVARIADAS: RELAÇÃO COM OUTRAS VARIÁVEIS NOS GRUPOS DE DOENTES



a



b

Figura 6.12: Distribuição das métricas de FA e MD calculadas para cada máscara (TBSS, WM, NAWM e WMH) e para os 3 grupos de estudo (Controlo, sSVD e CADASIL). (a) Altura do pico do histograma de MD; (b) Largura do histograma entre o 5° e 95° percentis de MD. A linha horizontal do *boxplot* indica a mediana da distribuição, os extremos correspondem ao valor mínimo e máximo. O retângulo do *boxplot* representa 50% da distribuição (entre os quartis 25 e 75).

Na análise estatística da mediana de FA (Fig. 6.10a) verificou-se a existência de efeitos principais significativos dos fatores grupo e máscara ($p < 0.001$). As comparações *Post hoc* indicaram a existência de diferenças significativas nos valores da mediana calculados com a máscara TBSS e as máscaras WM e NAWM ($p < 0.001$, em ambos os casos), não se observando diferenças significativas entre as máscaras WM e NAWM. Esta observação é expectável uma vez que a maior porção da WM é composta pela NAWM. Os valores da mediana de FA do grupo de Controlo mostraram-se significativamente superiores ao grupo CADASIL ($p = 0.012$). As restantes comparações não se mostraram significativas. No caso da altura do pico de FA (Fig. 6.10b) não só os efeitos principais de grupo e da máscara se demonstraram significativos ($p < 0.001$) como se verificou um efeito de interação significativo entre a máscara e o grupo ($p = 0.048$), embora esta interação seja muito subtil. Por sua vez nas comparações *Post hoc* observou-se diferenças significativas entre todas as máscaras ($p < 0.001$). E diferenças entre grupos nos casos: CADASIL *vs* Controlo ($p = 0.007$) e CADASIL *vs* sSVD ($p = 0.004$). Por fim, na distribuição da largura de FA (Fig. 6.11a) existe um efeito de grupo e um efeito da máscara ($p = 0.018$, $p < 0.001$, respetivamente). Existe uma diferença significativa no cálculo da largura de FA com a máscara TBSS comparativamente às máscaras WM e NAWM ($p < 0.001$). Além disso, os valores da largura de FA são significativamente inferiores no grupo de CADASIL em comparação com o grupo de sSVD ($p = 0.028$). Em relação aos Controlos os valores da largura de FA dos CADASIL também se mostraram significativamente menores ($p = 0.035$). Contudo, o grupo de Controlo não se mostrou significativamente diferente do grupo de sSVD.

A mediana de MD (Fig. 6.11b) calculada na máscara TBSS é também significativamente diferente da calculada com as outras duas máscaras. Em termos de grupos, os valores da mediana de FA para o grupo CADASIL mostraram-se significativamente diferentes comparativamente aos grupos de Controlo e sSVD ($p = 0.005$, $p = 0.013$, respetivamente). A análise da altura do pico de MD (Fig. 6.12a) revelou efeitos principais do grupo e da máscara ($p = 0.035$, $p < 0.001$, respetivamente). A mesma diferença significativa entre máscaras reportada no caso anterior demonstrou o mesmo nível de significância. Por fim, no gráfico 6.12b a largura entre os percentis de MD não é significativamente diferente entre grupos. Porém, existem efeitos significativos entre máscaras igual aos casos anteriores ($p < 0.001$).

Nas tabelas 6.1 a 6.4 encontram-se os resultados dos modelos de regressão linear múltipla e respetivos modelos ótimos.

Tabela 6.1: Resultados do modelo de regressão linear múltipla com as métricas extraídas a partir dos histogramas de FA e MD (TBSS). A negrito representam-se as associações significativas. TMT_A=Trail making Test A; WAIS_III=Wechsler Adult Intelligence Scale; β =Coeficiente de regressão estimado; SE=Erro-padrão

	Velocidade de Processamento			Função Executiva			Atenção e memória de trabalho			Aprendizagem e memória de longo prazo		
Modelo de regressão Linear	TMT_A			Stroop de Interferência			WAIS_III			Rey Memory		
Regressores	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p
Grupo	0.202	0.16	0.259	1.13	1.1	0.359	-0.369	0.96	0.714	-1.19	1.1	0.321
Idade	0.0936	0.07	0.202	0.0677	0.5	0.888	-0.0958	0.39	0.812	0.223	0.44	0.634
Volume cerebral normalizado	0.0377	0.08	0.671	0.0406	0.6	0.948	-0.139	0.5	0.791	-0.118	0.58	0.845
Carga lesional de WMH	-0.0939	0.17	0.605	0.243	1.2	0.848	1.87	1.02	0.116	-0.848	1.2	0.496
Mediana de FA	0.0582	0.16	0.725	1.54	1.1	0.216	0.0386	0.93	0.968	0.665	1.1	0.559
Mediana de MD	0.0285	0.16	0.866	0.590	1.1	0.623	-0.0111	0.96	0.991	0.523	1.1	0.651
Altura do pico de FA	0.0364	0.15	0.815	0.635	1.0	0.567	0.294	0.88	0.750	0.0079	1.0	0.994
Altura do pico de MD	0.0592	0.19	0.762	0.744	1.3	0.592	0.559	1.1	0.631	0.828	1.3	0.539
Largura entre o 5º e 95º percentis de FA	-0.0931	0.07	0.234	-0.111	0.50	0.830	1.09	0.42	0.0398	0.468	0.48	0.367
Largura entre o 5º e 95º percentis de MD	0.856	1.4	0.574	8.540	10.2	0.433	1.55	8.5	0.862	7.11	9.8	0.496
Modelo global (valor-p; R² ajustado)	(0.688; -0.207)			(0.757; -0.307)			(0.457; 0.0796)			(0.697; -0.219)		
Modelo Stepwise (valor-p; R² ajustado)	(0.0586; 0.293)			(0.0612; 0.288)			(0.0117; 0.511)			(0.0277; 0.316)		
Grupo	0.123	0.07	0.116	1.02	0.61	0.116	-	-	-	-1.02	0.48	0.0522
Idade	0.0654	0.03	0.0595	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Volume cerebral normalizado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carga lesional de WMH	-	-	-	-	-	-	1.76	0.63	0.0161	-	-	-
Mediana de FA	-	-	-	0.990	0.36	0.0175	-	-	-	-	-	-
Mediana de MD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Altura do pico de FA	-	-	-	0.895	0.45	0.0682	0.420	0.34	0.241	-	-	-
Altura do pico de MD	-	-	-	-	-	-	0.433	0.25	0.107	-	-	-
Largura entre o 5º e 95º percentis de FA	-0.0567	0.04	0.143	-	-	-	1.06	0.27	<0.01	0.705	0.24	0.0102
Largura entre o 5º e 95º percentis de MD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TBSS

Tabela 6.2: Resultados do modelo de regressão linear múltipla com as métricas extraídas a partir dos histogramas de FA e MD (WM). A negrito representam-se as associações significativas. TMT_A=Trail making Test A; WAIS_III=Wechsler Adult Intelligence Scale; β =Coeficiente de regressão estimado; SE=Erro-padrão

	Velocidade de Processamento			Função Executiva			Atenção e memória de trabalho			Aprendizagem e memória de longo prazo		
	TMT_A			Stroop de Interferência			WAIS_III			Rey Memory		
	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p
Modelo de regressão Linear												
Regressores												
Grupo	0.243	0.23	0.325	1.66	1.5	0.322	-0.568	1.8	0.758	0.184	1.3	0.895
Idade	0.0592	0.09	0.517	0.150	0.58	0.806	-0.0608	0.67	0.930	0.903	0.51	0.125
Volume cerebral normalizado	0.0533	0.11	0.639	0.314	0.73	0.683	-0.134	0.84	0.878	0.626	0.64	0.363
Carga lesional de WMH	0.107	0.25	0.687	1.98	1.7	0.291	0.982	2.0	0.634	0.122	1.5	0.937
Mediana de FA	0.293	0.24	0.275	2.31	1.7	0.211	-1.19	1.9	0.553	0.825	1.4	0.586
Mediana de MD	0.128	0.13	0.368	0.914	0.89	0.344	-0.319	1.0	0.765	-0.0509	0.78	0.950
Altura do pico de FA	0.0265	0.14	0.858	0.182	0.96	0.856	-0.117	1.1	0.919	-0.279	0.83	0.749
Altura do pico de MD	0.0112	0.11	0.923	0.0938	0.76	0.905	0.343	0.87	0.706	0.657	0.66	0.356
Largura entre o 5º e 95º percentis de FA	-0.198	0.24	0.447	-0.909	1.7	0.602	1.20	1.9	0.550	-1.34	1.4	0.386
Largura entre o 5º e 95º percentis de MD	0.0955	0.09	0.344	-0.0109	0.63	0.987	-0.256	0.72	0.735	-0.279	0.55	0.629
Modelo global (valor-p; R ² ajustado)	(0.719; -0.250)			(0.718; -0.249)			(0.918; -0.64)			(0.476; 0.058)		
Modelo Stepwise (valor-p; R ² ajustado)	(0.0236; 0.250)			(0.0846; 0.293)			(0.0938; 0.185)			(0.0384; 0.440)		
Grupo	-			0.680	0.53	0.221	-			-		
Idade	-			-			-			0.758	0.31	0.0303
Volume cerebral normalizado	-			-			-			0.600	0.23	0.0250
Carga lesional de WMH	-			1.11	0.80	0.191	1.17	0.72	0.127	-		
Mediana de FA	-			1.48	0.55	0.0189	-			0.938	0.61	0.154
Mediana de MD	-			0.909	0.54	0.116	-			-		
Altura do pico de FA	-			-			-			-		
Altura do pico de MD	-			-			-			0.693	0.40	0.118
Largura entre o 5º e 95º percentis de FA	-			-			0.620	0.27	0.0354	-		
Largura entre o 5º e 95º percentis de MD	0.0804	0.03	0.0236	-			-			-0.108	0.49	0.0496

WM

Tabela 6.3: Resultados do modelo de regressão linear múltipla com as métricas extraídas a partir dos histogramas de FA e MD (NAWM). A negrito representam-se as associações significativas. TMT_A=Trail making Test A; WAIS_III=Wechsler Adult Intelligence Scale; β =Coeficiente de regressão estimado; SE=Erro-padrão

Modelo de regressão Linear	Velocidade de Processamento			Função Executiva			Atenção e memória de trabalho			Aprendizagem e memória de longo prazo		
	TMT_A			Stroop de Interferência			WAIS_III			Rey Memory		
	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p
Grupo	0.246	0.23	0.321	1.63	1.6	0.337	-0.483	1.8	0.792	0.211	1.3	0.879
Idade	0.0593	0.087	0.520	0.167	0.60	0.790	-0.505	0.67	0.942	0.891	0.51	0.129
Volume cerebral normalizado	0.0594	0.11	0.610	0.331	0.76	0.678	-0.115	0.85	0.897	0.638	0.64	0.360
Carga lesional de WMH	0.149	0.28	0.611	2.18	1.9	0.298	0.984	2.1	0.690	0.292	1.6	0.863
Mediana de FA	0.290	0.26	0.308	2.26	1.8	0.254	-1.04	2.0	0.623	0.905	1.5	0.573
Mediana de MD	0.108	0.13	0.454	0.786	0.93	0.430	-0.234	1.0	0.829	-0.0528	0.79	0.949
Altura do pico de FA	0.0448	0.15	0.946	0.225	1.0	0.829	-0.120	1.1	0.917	-0.191	0.85	0.829
Altura do pico de MD	0.00769	0.11	0.768	0.0711	0.75	0.928	0.346	0.84	0.695	0.637	0.64	0.355
Largura entre o 5º e 95º percentis de FA	-0.189	0.24	0.458	-0.893	1.6	0.606	1.09	1.8	0.573	-1.29	1.4	0.390
Largura entre o 5º e 95º percentis de MD	0.0963	0.10	0.356	-0.0329	0.66	0.962	-0.229	0.74	0.768	-0.253	0.56	0.668
Modelo global (valor-p; R ² ajustado)	(0.741; -0.283)			(0.767; -0.323)			(0.922; -0.655)			(0.482; 0.0501)		
Modelo Stepwise (valor-p; R ² ajustado)	(0.0236; 0.25)			(0.0359; 0.21)			(0.0866; 0.19)			(0.0384; 0.440)		
Grupo	-			-			-			-		
Idade	-			-			-			0.751	0.30	0.0306
Volume cerebral normalizado	-			-			1.11	0.70	0.134	0.590	0.23	0.0265
Carga lesional de WMH	-			-			-			-		
Mediana de FA	-			0.511	0.22	0.0359	-			0.957	0.61	0.143
Mediana de MD	-			-			-			-		
Altura do pico de FA	-			-			-			-		
Altura do pico de MD	-			-			-			0.650	0.40	0.133
Largura entre o 5º e 95º percentis de FA	-			-			0.616	0.26	0.0323	-1.07	0.48	0.0490
Largura entre o 5º e 95º percentis de MD	0.0805	0.032	0.0236	-			-			-		

Tabela 6.4: Resultados do modelo de regressão linear múltipla com as métricas extraídas a partir dos histogramas de FA e MD (WMH). A negrito representam-se as associações significativas. TMT_A=Trail making Test A; WAIS_III=Wechsler Adult Intelligence Scale; β =Coeficiente de regressão estimado; SE=Erro-padrão

WMH	Velocidade de Processamento			Função Executiva			Atenção e memória de trabalho			Aprendizagem e memória de longo prazo			
	Modelo de regressão Linear	TMT_A			Stroop de Interferência			WAIS_III			Rey Memory		
	Regressores	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p	β	SE	Valor-p
	Grupo	0.120	0.13	0.378	1.12	0.66	0.143	0.193	0.88	0.834	0.211	1.3	0.879
	Idade	0.0804	0.055	0.195	0.0783	0.29	0.795	-0.122	0.39	0.762	0.891	0.51	0.126
	Volume cerebral normalizado	-0.0132	0.11	0.907	0.310	0.57	0.605	0.084	0.76	0.915	0.638	0.64	0.360
	Carga lesional de WMH	0.138	0.28	0.638	1.95	1.5	0.231	2.34	2.0	0.276	0.292	1.6	0.863
	Mediana de FA	0.0746	0.12	0.554	1.52	0.62	0.051	-0.667	0.83	0.454	0.905	1.5	0.573
	Mediana de MD	0.114	0.095	0.274	0.870	0.50	0.132	-0.271	0.67	0.699	-0.0528	0.79	0.949
	Altura do pico de FA	0.0233	0.13	0.865	0.0477	0.69	0.947	0.159	0.92	0.869	-0.191	0.85	0.829
	Altura do pico de MD	0.0510	0.11	0.659	-0.00481	0.58	0.994	0.974	0.77	0.252	0.637	0.64	0.355
	Largura entre o 5º e 95º percentis de FA	0.0264	0.14	0.860	-0.0708	0.76	0.929	0.449	1.0	0.673	-1.29	1.4	0.390
	Largura entre o 5º e 95º percentis de MD	0.0351	0.079	0.672	-0.0766	0.41	0.859	0.0706	0.55	0.903	-0.253	0.56	0.668
Modelo global (valor-p; R² ajustado)	(0.786; -0.354)			(0.363; 0.189)			(0.836; -0.445)			(0.482; 0.0501)			
Modelo Stepwise (valor-p; R² ajustado)	(0.0324; 0.222)			(0.0150; 0.538)			(0.0905; 0.189)			(0.0384; 0.324)			
Grupo	-			1.11	0.48	0.0397	-			0.938	0.47	0.0634	
Idade	0.0767	0.033	0.0324	-			-			-			
Volume cerebral normalizado	-			0.271	0.22	0.239	-			-			
Carga lesional de WMH	-			1.87	0.70	0.0222	1.75	0.87	0.064	-			
Mediana de FA	-			1.47	0.35	<0.01	-			-			
Mediana de MD	-			0.849	0.32	0.0236	-			-			
Altura do pico de FA	-			-			-			-			
Altura do pico de MD	-			-			0.761	0.32	0.034	0.691	0.23	<0.01	
Largura entre o 5º e 95º percentis de FA	-			-			-			-			
Largura entre o 5º e 95º percentis de MD	-			-			-			-			

6.2. ANÁLISE DE MÉTRICAS UNIVARIADAS: RELAÇÃO COM OUTRAS VARIÁVEIS NOS GRUPOS DE DOENTES

Do ponto de vista comparativo, a figura 6.13 é representativa da qualidade do ajuste dos modelos com o método *stepwise* para as 4 máscaras consideradas.

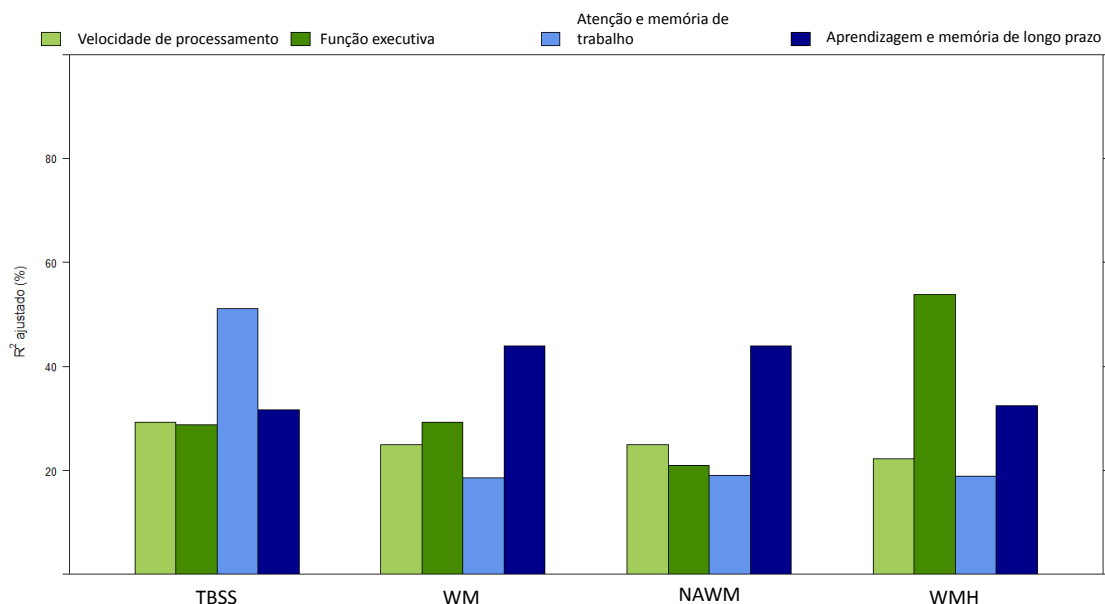


Figura 6.13: Qualidade do ajuste dos modelos de regressão *stepwise* quantificada através do coeficiente de determinação ajustado (R^2 ajustado) para as 4 máscaras consideradas (TBSS, WM, NAWM e WMH) na explicação dos 4 domínios cognitivos avaliados.

7 | Sumário dos resultados e sua relação com a literatura

Nesta primeira fase de análise global das imagens de DTI, o principal objetivo foi encontrar diferenças microestruturais significativas no esqueleto de FA e MD obtido através do método TBSS, entre os diferentes grupos. Os resultados da análise *voxel-a-voxel* foram reveladores do potencial e sensibilidade deste método para localizar espacialmente diferenças significativas entre grupos. Salientando-se que este método não requer a especificação prévia de uma ROI e com a vantagem de permitir uma localização espacial das diferenças ao contrário do método de análise dos histogramas. A distribuição das diferenças observada pode ser relevante na medida em que a sua localização pode estar relacionada com défices cognitivos observados [130].

Na SVD, o padrão de alteração dos parâmetros de difusão é normalmente caracterizado pela diminuição do índice de FA em paralelo com um aumento do parâmetro de MD (ver secção 4.1) [71]. De acordo com os resultados obtidos confirma-se o padrão sobretudo nas comparações Controlo > sSVD, Controlo > CADASIL e CADASIL > Controlo. Não existe, no entanto, até à data referências a estudos comparativos neste âmbito entre os grupos de sSVD e CADASIL. Contudo os resultados parecem indicar uma maior severidade da doença no grupo de doentes com CADASIL.

De acordo com a literatura, nos estágios mais iniciais da doença CADASIL as WMH são as lesões mais tipicamente detetadas através de imagens FLAIR. Globalmente, as lesões surgem maioritariamente na zona periventricular e no centro semioval. Em estágios mais avançados da doença observa-se uma maior dispersão da distribuição das lesões sem padrão definido, podendo atingir áreas como a cápsula externa e a parte anterior do lobos temporais, sendo ainda detetáveis lesões nos gânglios da base, tálamo, tronco cerebral e corpo caloso, e

mais raramente no cerebelo. Além disso, as lacunas avaliadas através de T1WI também são características destes estágios mais avançados e surgem praticamente nas mesmas zonas [12]. Um estudo desenvolvido por Mascalchi *et al* [95] aplicando o método TBSS com um procedimento semelhante a este estudo a um grupo de 18 sujeitos com CADASIL identificou alterações significativas nas mesmas regiões, à excepção das áreas abrangidas pelo tronco cerebral e pelo cerebelo. Além disso, um outro estudo de tractografia do caso de um doente com CADASIL revelou que todos os tractos considerados no estudo demonstraram desvios nos parâmetros de MD e FA concordantes com os encontrados neste estudo, à excepção do fórnix. Além disso, as alterações reportadas mostraram-se de acordo com as manifestações clínicas do doente [131]. Alguns estudos demonstraram existir uma maior sensibilidade e correlação do DTI com os défices cognitivos do que as T2WI [71, 73, 77]. Nesta tese, os resultados obtidos sugerem a existência de uma relação entre a localização das alterações de FA e MD e a localização das WMH. A quantificação da porção do esqueleto com diferenças sobrepostas às WMH é indicativo nesse sentido.

Relativamente, aos doentes com sSVD o padrão de lesões apresenta uma maior variabilidade [132]. Contudo, Tuladhar *et al* [133] reportou perdas de integridade microestrutural significativas em regiões específicas como cíngulo, corpo caloso e lobo frontal, fortemente correlacionadas com baixas performances cognitivas em vários domínios. O fascículo uncinado e o cíngulo também foram identificados por outro grupo de investigadores como correlacionado com a memória de trabalho e memória a longo prazo numa amostra de doentes com sSVD [134]. De salientar que o DTI é sensível a alterações microestruturais na WM, incluindo NAWM, e nessa perspetiva pode ser útil na deteção de estágios iniciais da sSVD dado que esta é maioritariamente relacionada com factores de risco e idade [135, 136].

Os resultados obtidos sugerem que a hipótese de assumir que o DTI traduz as alterações microestruturais derivadas da patologia é válida. A relação direta entre a disrupção de alguns tractos específicos e alterações no estado cognitivo é uma hipótese que é admitida como possível mecanismo para disfunções ao nível de domínios cognitivos como velocidade de processamento, atenção e função executiva [69]. Por exemplo, a lesão de tractos como fórceps menor e as radiações talâmicas apresentam correlação com défices ao nível da velocidade de processamento em ambos os grupos de doentes [137, 138]. Também foi demonstrado por outro grupo que alterações na MD ao nível do fascículo longitudinal anterior e

posterior, e cíngulo estão correlacionadas com o desempenho da função executiva dos doentes com CADASIL [139]. Contudo, mais estudos são necessários para explorar a relação entre a disrupção de tractos específicos e os efeitos no estado cognitivo.

No geral, conclui-se que transversalmente às comparações de FA e MD as diferenças significativas encontradas podem agrupar-se em 3 grupos: (1) conexões cerebrais interhemisféricas, (2) conexões cerebrais intrahemisféricas (corpo caloso) e (3) conexões cerebro-cerebelares [95, 104]. Tendo em conta, que a localização das lesões é difusa e que os tractos com diferenças afetam as 3 principais vias de conexão cerebral, isto é sugestivo da existência de um défice cognitivo global a todos os domínios, neste grupo de doentes.

Na segunda fase da análise, o potencial explicativo das métricas de DTI dos défices cognitivos observados nos doentes foi avaliado através de modelos de regressão linear múltipla. O perfil neuropsicológico de doentes com CADASIL e sSVD é frequentemente caracterizado por disfunções ao nível dos domínios de atenção, função executiva e velocidade de processamento [69, 97].

De acordo com os modelos de regressão linear múltipla e com os modelos do método *stepwise*, as métricas derivadas de DTI demonstram, em geral, maior correlação com os diversos domínios cognitivos, comparativamente às medidas quantitativas macroestruturais como nBV e nWMHLL. Estes resultados sugerem que o DTI apresenta potencial para fornecer biomarcadores imagiológicos mais sensíveis da doença que os biomarcadores de MRI convencionais. Esta observação está de acordo com a hipótese das métricas de DTI serem mais sensíveis a alterações microestruturais não apenas em zonas de lesão mas também na NAWM, podendo estas alterações anteceder o aparecimento de lesões macroestruturais associadas à SVD em imagens estruturais convencionais [86, 140].

Primeiramente, na máscara TBSS verificou-se que o modelo ótimo explicativo da velocidade de processamento selecionou a idade, o grupo e a largura de FA como variáveis explicativas. Contudo a correlação não se mostrou significativa. Noutro estudo, a largura entre o 5º e 95º percentis do histograma de MD foi testada em amostras de doentes com CADASIL e validada em amostras de doentes com sSVD tendo demonstrado associações significativas em ambos os casos [10]. Por isso, seria de esperar que esta métrica estivesse significativamente correlacionada com a velocidade de processamento. Uma possível razão para essa incoerência

é a dimensão relativamente menor da amostra utilizada nesta tese (11 doentes com sSVD e 6 doentes com CADASIL) comparativamente à amostra considerada no estudo referido (549 doentes com sSVD e 170 doentes com CADASIL). Além disso, apesar das métricas terem sido extraídas do esqueleto onde se especula que a contaminação do CSF seja menor, na metodologia adoptada por esse estudo foram eliminados da análise partes específicas de tractos (por exemplo, fórnix), através de máscaras costumizadas. O motivo para tal é existirem na literatura referências da contaminação do CSF em tractos específicos [141, 142]. Esta correção é importante para eliminar o pico do histograma associado ao CSF que pode influenciar o cálculo da largura entre os percentis.

Ainda nos modelos *stepwise*, com a máscara TBSS, a mediana de FA explica significativamente a função executiva (29% da variância, $p < 0.05$). No modelo final, o grupo e a altura do pico de FA também foram incluídos como explicativos deste domínio. Este resultado é consistente com as correlações significativas encontrados por Grieve *et al* [143] entre os parâmetros de FA e tractos com associação a capacidades executivas. No mesmo estudo é inclusive proposto que as medidas de FA possam ser indicadores do declínio cognitivo deste domínio associado à idade. A largura de FA mostrou-se correlacionada com a atenção e memória de trabalho ($p < 0.01$). Também a nWMHLL explica significativamente este domínio. O modelo final apenas conteve a carga lesional de WMH, altura do pico de FA e MD e largura de FA explicando 51% da variação ($p = 0.0117$). Por sua vez, a largura de FA explica significativamente a aprendizagem e memória de longo prazo ($p = 0.01$). O modelo final incluiu também o grupo na explicação de 32% da variação dos dados ($p = 0.027$). Na literatura, poucos estudos têm estabelecido foco na investigação dos domínios associados à memória de trabalho e memória de longo prazo. No entanto, dada a hipótese de disrupção dos tractos como possível origem do declínio cognitivo em doentes com SVD é importante que se explorem a associação destes domínios às várias métricas. Além disso, estes domínios cognitivos estão associadas a tractos localizados no centro semioval, e tal como mencionado na análise *voxel-a-voxel* lesões nesta região estão particularmente associadas à SVD [134].

Relativamente às máscaras WM e NAWM verificou-se que a largura de MD associa-se significativamente à velocidade de processamento explicando cerca de 25% da variância ($p = 0.024$) em ambos os casos. Um estudo que avaliou as métricas dos histogramas de FA e MD destas duas máscaras neste domínio cognitivo, reportou associações significativas da mediana de FA ($p = 0.01$) e a

altura do pico de MD ($p=0.01$) (máscara de WM), e da mediana de FA ($p<0.01$) (máscara de NAWM), em modelos de regressão simples [121]. Quando considerados em modelos de regressão múltiplas não se verificam associações significativas.

Por sua vez, a função executiva é explicada por um conjunto de variáveis que inclui o grupo, a carga lesional de WMH, a mediana de FA e MD, no caso da máscara WM. Contudo, apenas a mediana de FA se verifica significativamente correlacionada ($p=0.019$), não correspondendo ao modelo que melhor explica este domínio. No caso da máscara NAWM, a mediana de FA explica significativamente cerca de 21% da variação da função executiva ($p=0.036$). Este domínio cognitivo tem vindo a ser estudado no âmbito da SVD. Nitkunan e colaboradores [38], usando métricas derivadas de uma máscara de WM demonstraram que a altura do pico de FA explicava 74% da variação na função executiva, aplicando um modelo *stepwise* apenas com os parâmetros de DTI. Além disso, a altura do pico de FA neste estudo mostrou alterações significativas ao fim de um ano de estudo nos mesmos doentes, ao contrário das medidas quantitativas de MRI convencionais. Um outro estudo com 499 doentes com SVD encontrou correlações significativas entre a média de FA e MD na NAWM e a função executiva em regressões lineares simples [139]. Também foram encontradas correlações significativas entre as medidas de difusão na NAWM e a função executiva [77].

Considerando a máscara WM, observa-se que a largura de FA explica significativamente a variação no domínio da atenção e memória de trabalho ($p=0.035$). No modelo final, também a nWMHLL foi incluída, no entanto, o modelo no global não é significativo. Em contraste, para a máscara NAWM, o modelo final não demonstrou correlações significativas com a atenção e memória de trabalho. Associações significativas entre os índices de FA e MD em WM e NAWM com a atenção foram encontradas em doentes com SVD [84].

O modelo final que explica cerca de 44% da variação no domínio da aprendizagem e memória de longo prazo ($p=0.038$) incluiu a idade ($p=0.03$), a carga lesional de WMH ($p=0.025$), a mediana de FA ($p=0.15$), a altura do pico de MD ($p=0.118$) e a largura de MD ($p=0.049$). À semelhança da máscara WM cerca de 44% da variação da aprendizagem e memória de longo prazo é explicada pelo mesmo conjunto de métricas à excepção da largura de MD, passando o modelo, por sua vez, a incluir a largura de FA ($p=0.049$).

Por fim, usando a máscara WMH verificou-se que a idade explica significativamente cerca de 22% da variação da velocidade de processamento ($p=0.032$), salientando que esta máscara engloba as zonas de lesão. Esta associação é interessante dado que um dos fatores de risco associados à SVD é a idade e também ter-se verificado que o aumento das WMH está particularmente relacionado com a idade [15, 144]. O modelo final explica significativamente cerca de 53,8% da variação nos dados da função executiva. Neste modelo, são incluídas como variáveis explicativas o grupo ($p=0.039$), o volume cerebral ($p=0.24$), a carga lesional de WMH ($p=0.022$), a mediana de FA ($p<0.01$) e a mediana de MD ($p=0.024$). Por sua vez, o modelo que melhor explica a variação da atenção e memória de trabalho não apresentou significância estatística ($p=0.09$). Contudo, as métricas selecionadas por este modelo englobaram a carga lesional ($p=0.064$) e a altura do pico de MD ($p=0.034$). Por fim, a altura do pico de MD explica significativamente a aprendizagem e memória de longo prazo ($p<0.01$), sendo também incluído no modelo o grupo ($p=0.063$). O modelo final explica cerca de 32% da variância ($p=0.038$). Em geral, os estudos de DTI considerando como ROI áreas de lesão reportam correlações significativas com testes cognitivos quantitativos de um défice cognitivo global [71].

Em geral, nos resultados obtidos o índice de FA mostrou mais associações significativas com os diversos domínios cognitivos considerados em comparação com o índice de MD. Contudo, deverá ser analisado com maior profundidade o contributo de cada métrica individual nos modelos *stepwise* para a explicação da variação dos dados. Pelo contrário, praticamente não se verificaram correlações relevantes com a nWMHLL, sendo consistente com o reportado previamente na literatura. Assim sendo, os resultados obtidos neste trabalho corroboram o carácter explicativo das medidas quantitativas de DTI reconhecendo-se a necessidade de aumentar a amostra em estudo, bem como testar a prevalência da sensibilidade destas métricas em estudos longitudinais.

Em relação às máscaras avaliadas nesta análise, mais concretamente: (1) TBSS; (2) WM, (3) NAWM e (4) WMH. De modo geral, a análise da figura 6.13 sugere que a máscara TBSS permite obter modelos que melhor explicam a variação nas variáveis cognitivas. Dado que o método de construção do esqueleto no método TBSS apenas considera os valores mais altos de FA e MD na vizinhança do centro dos tractos do esqueleto médio, especula-se que a contaminação do CSF seja minimizada nesta situação, ao contrário das outras máscaras.

A máscara WMH dificilmente demonstrará a sensibilidade desejada dado que abrange um menor número de *voxels* e apresenta elevada variabilidade entre sujeitos ($n = 15 \times 10^3 \pm 12 \times 10^3$). A máscara TBSS é a mesma para todos os sujeitos logo não apresenta qualquer dispersão ($n = 113181$). Além disso, ao usar a máscara WMH perde-se sensibilidade às alterações microestruturais que possam ocorrer em NAWM. Por outro lado, tal como verificado no capítulo anterior não existem diferenças significativas entre as máscaras WM e NAWM, uma vez que, a maior porção de WM é constituída por NAWM. Estas máscaras permitem a análise de um elevado número de *voxels* ($n = 51 \times 10^4 \pm 12 \times 10^3$ e $n = 50 \times 10^4 \pm 17 \times 10^3$) comparativamente a máscaras que abrangem apenas áreas de lesão, ou outras regiões de interesse, permitindo a obtenção de resultados mais representativos das alterações microestruturais.

8 | Conclusões e Perspetivas Futuras

O desafio imposto ao diagnóstico da SVD tem motivado a procura por um biomarcador imagiológico que em si reúna características que permitam a sua fácil implementação em clínica, seja aplicável a um grande número de sujeitos e traduza diretamente os défices cognitivos observados. Nesta tese, explorou-se o potencial da DWI para fornecer biomarcadores imagiológicos da SVD. Primeiramente, uma análise *voxel-a-voxel* aplicando o método TBSS foi conduzida para encontrar diferenças significativas entre grupos. O padrão de alteração patológica dos parâmetros de DTI caracterizado por um aumento de MD e diminuição de FA confirma-se mais uma vez nos resultados desta análise. Foi ainda possível localizar espacialmente as alterações microestruturais entre grupos. Este tipo de resultados pode ser crucial para estudar os mecanismos subjacentes à disfunção de determinados domínios cognitivos. Dando assim suporte à teoria da disrupção de tractos. Posteriormente, uma análise de modelos de regressão linear múltipla foi implementada para encontrar correlações entre as métricas extraídas dos histogramas de FA e MD considerando 4 máscaras (TBSS, WM, NAWM e WMH) e os domínios cognitivos (Velocidade de processamento, Função executiva, Atenção e memória de trabalho e Aprendizagem e memória de longo prazo). Nestes modelos, foram também adicionados como covariáveis o nBV, a nWMHLL, a idade e o grupo. Os resultados desta análise demonstraram existir mais correlações significativas entre os parâmetros de DTI em comparação com as métricas extraídas de imagens estruturais convencionais.

Dentro dos biomarcadores de MRI convencionais da doença as métricas com base em quantificações manuais da carga de lesão permitem apenas uma caracterização macroscópica da doença e não são sensíveis a possíveis alterações em NAWM que não sejam visíveis na imagem. Além disso, tal como indicado na literatura e verificado nesta tese estes métodos não demonstram, em geral, correlações significativas com os diversos estados cognitivos. De acordo com o

objetivo principal desta tese e avaliando os resultados obtidos considera-se que existe potencial do DTI para fornecer biomarcadores imagiológicos.

8.1 Limitações do estudo

Algumas limitações neste estudo deverão ser consideradas. Em ambas as análises, generalizações dos resultados não podem ser aplicadas dada a falta de poder estatístico em consequência da pequena amostra em estudo. Deste modo, mais estudos são necessários para validar esta observação em amostras maiores. Nomeadamente, através de estudos longitudinais onde se possam avaliar inclusive a progressão da doença, ou a sensibilidade do DTI para detetar padrões de alterações em ensaios clínicos. Contudo considera-se que ainda existe um longo caminho a percorrer com o objetivo de refinar as informações que se podem extrair do DTI, estudos de reprodutibilidade e repetibilidade são igualmente necessários para o processo de validação desta técnica como biomarcador imagiológico. Além disso, a falta de consenso nos termos utilizados para caracterizar a SVD e falta de uma proposta de metodologia comum no processamento das imagens, para tornar os resultados comparáveis entre estudos, foi limitativo para alcançar comparações mais rigorosas com a literatura.

Por outro lado, apesar do método de análise dos histogramas de FA e MD ser reportado na literatura em vários estudos de SVD com correlações significativas entre as métricas dos histogramas e o estado cognitivo (ver secção 4.3) é importante reconhecer algumas desvantagens desta abordagem. Como tal, reconhece-se que a quantificação dos histogramas é particularmente sensível a contaminações do CSF podendo introduzir viés nos resultados [142]. Nesta tese, essa correção não foi tida em consideração, apontando-se como limitação deste estudo.

No processo de quantificação da sobreposição das zonas de lesão com a localização das diferenças entre grupos e da NAWM deverá ser feito com maior rigor. Uma vez que, o método inerente à construção do esqueleto pressupõe uma pesquisa na vizinhança do centro do tracto, ao sobrepôr com as zonas de lesão pode não se estar a considerar a localização correta. Para compensar esse facto, o *script tbss_fill* foi aplicado para aumentar a espessura dos tractos englobando a parte correspondente à sua vizinhança. Contudo, assume-se este facto como uma limitação a uma avaliação mais rigorosa.

Por fim, reconhece-se que amostras maiores permitiriam fazer uma validação cruzada para estimar a performance dos modelos previstos. A não otimização do

protocolo de aquisição foi limitativa no sentido de não permitir o total usufruto das ferramentas disponíveis para correção de artefactos e assim melhorar a qualidade das imagens e a estimativa dos parâmetros quantitativos de DTI. A disponibilidade de dados normativos dos testes neuropsicológicos para a população portuguesa seria preponderante para permitir comparações entre os vários estudos com DTI, algo que não foi possível neste estudo.

8.2 Perspetivas futuras

No futuro, alguns passos podem ser conduzidos no seguimento desta tese:

- Informação adicional pode ser retirada dos índices de difusibilidade axial ou radial;
- Testar a assimetria da localização das diferenças significativas encontradas no TBSS através do *script tbss_sym* poderá ser revelador do padrão característico destas diferenças;
- Correlação dos resultados da técnica de DTI com os resultados obtidos através da análise de redes de repouso e perfusão;
- Explorar a correlação das métricas de DTI com os dados dos fatores de risco;
- Um estudo da rede neuronal através da tractografia pode igualmente ser interessante para explorar a eficiência da rede.

Referências

- [1] G. Banerjee et al. “Novel imaging techniques in cerebral small vessel diseases and vascular cognitive impairment”. Em: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1862.5 (2015), pp. 926–938. ISSN: 09254439. DOI: 10.1016/j.bbadis.2015.12.010.
- [2] Alzheimer’s Association. *Vascular Dementia*. 2017. URL: <https://www.alz.org/dementia/vascular-dementia-symptoms.asp> (acedido em 25/01/2017).
- [3] A. Wimo e M. Prince. “World Alzheimer Report 2010 – The Global Economic Impact of Dementia. Alzheimer’s Disease International”. Em: *London* (2010), p. 96. ISSN: 0963-7214. DOI: 10.1111/j.0963-7214.2004.00293.x.
- [4] L. Pantoni e P. B. Gorelick. *Cerebral Small Vessel Disease*. Cambridge University Press, 2014, p. 16. ISBN: 9781107031661.
- [5] E. J. Roth. “Cerebrovascular Disease”. Em: *Encyclopedia of Clinical Neuropsychology* (2011), p. 536. DOI: 10.1007/978-0-387-79948-3_2167.
- [6] W.-D. Heiss et al. “Neuroimaging in vascular cognitive impairment: a state of the art review”. Em: *BMC Medicine* 14.1 (2016), p. 174. ISSN: 1741-7015. DOI: 10.1186/s12916-016-0725-0.
- [7] J. M. Wardlaw, C Smith e M. Dichgans. “Mechanisms underlying sporadic cerebral small vessel disease : insights from neuroimaging”. Em: *Lancet neurology* 12.5 (2013), pp. 70060–7. ISSN: 1474-4465. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70060-7.Mechanisms.
- [8] K. Schmidtke e M. Hüll. “Cerebral small vessel disease: How does it progress?” Em: *Journal of the Neurological Sciences* 229-230 (2005), pp. 13–20. ISSN: 0022510X. DOI: 10.1016/j.jns.2004.11.048.
- [9] A. Charidimou, L. Pantoni e S. Love. “The concept of sporadic cerebral small vessel disease: A road map on key definitions and current concepts”. Em: *International Journal of Stroke* 11.1 (2016), pp. 6–18. DOI: 10.1177/1747493015607485.
- [10] E. Baykara et al. “A Novel Imaging Marker for Small Vessel Disease Based on Skeletonization of White Matter Tracts and Diffusion Histograms”. Em: *Annals of Neurology* 80.4 (2016), pp. 581–592. ISSN: 15318249.

- [11] L. Pantoni. "Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges". Em: *The Lancet Neurology* 9.7 (2010), pp. 689–701. ISSN: 14744422. DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70104-6.
- [12] H. Chabriat et al. "CADASIL". Em: *The Lancet Neurology* 8.7 (2009), pp. 643–653. ISSN: 14744422. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70127-9.
- [13] M. Dichgans e V. Zietemann. "Prevention of vascular cognitive impairment". Em: *Stroke* 43.11 (2012), pp. 3137–3146. ISSN: 00392499. DOI: 10.1161/STROKEAHA.112.651778.
- [14] J. Wardlaw, C. Smith e M. Dichgans. "Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: Insights from neuroimaging". Em: *The Lancet Neurology* 12.5 (2013). DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70060-7.
- [15] B. Patel e H. S. Markus. "Magnetic resonance imaging in cerebral small vessel disease and its use as a surrogate disease marker". Em: *International Journal of Stroke* 6.1 (2011), pp. 47–59. DOI: 10.1111/j.1747-4949.2010.00552.x.
- [16] C. Dufouil et al. "Effects of Blood Pressure Lowering on Cerebral White Matter Hyperintensities in Patients With Stroke: The PROGRESS (Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study) Magnetic Resonance Imaging Substudy". Em: *Stroke* 112.11 (2005), pp. 1644–1650. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.501163>.
- [17] J. M. Wardlaw et al. "Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration". Em: *The Lancet Neurology* 12.8 (2013), pp. 822–838. ISSN: 1474-4422. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70124-8.
- [18] F. Rincon e C. B. Wright. "Current pathophysiological concepts in cerebral small vessel disease". Em: *Frontiers in Aging Neuroscience* 6.MAR (2014), pp. 1–8. ISSN: 16634365. DOI: 10.3389/fnagi.2014.00024.
- [19] N. D. Prins e P. Scheltens. "White Matter hyperintensities, cognitive impairment and dementia: an update". Em: *Nature reviews. Neuroscience* 11.3 (2015), pp. 157–165. DOI: 10.1038/nrneuro1.2015.10.
- [20] S. Debette e H. S. Markus. "The clinical importance of white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: systematic review a meta-analysis". Em: *BMJ* 341 (2010), p. c3666. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.c3666>.
- [21] R. Schmidt et al. "Progression of leukoaraiosis and cognition". Em: *Stroke* 38 (2007), pp. 2619–2625. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.489112.
- [22] S. D. J. Makin et al. "Cognitive impairment after lacunar stroke: systematic review and meta-analysis of incidence, prevalence and comparison with other stroke subtypes". Em: *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84.8 (2013), pp. 893–900. DOI: 10.1136/jnnp-2012-303645.

-
- [23] A. Arboix. "Lacunar infarct and cognitive decline". Em: *Expert review of neurotherapeutics* 11.9 (2011), pp. 1251–1254. DOI: 10.1586/ern.11.118.
- [24] J. D. Edwards et al. "A quantitative systematic review of domain-specific cognitive impairment in lacunar stroke". Em: *Neurology* 80.3 (2013), pp. 315–322. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31827deb85.
- [25] F. Fazekas et al. "MR Signal Abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's Dementia and Normal Aging deficiency". Em: *American Roentgen Ray Society* Agosto (1987), pp. 351–356. DOI: 10.2214/ajr.149.2.351.
- [26] R Schmidt et al. "Progression of cerebral white matter lesions 6-years results of the Austrian Stroke Prevention Study". Em: *Lancet neurology* 361 (2003), pp. 2046–2048. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13616-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13616-1).
- [27] G. Whitman et al. "A prospective study of cerebral white matter abnormalities in older people with gait dysfunction". Em: *Neurology* 57 (2001), pp. 990–994.
- [28] D. van den Heuvel et al. "Increase in periventricular white matter hyperintensities parallels decline in mental processing speed in a non-demented elderly population". Em: *Neurosurg Psychiatry* 77.2 (2006), pp. 149–153. DOI: 10.1136/jnnp.2005.070193.
- [29] M. J. Firbank et al. "Brain atrophy and white matter hyperintensity change in older adults and relationship to blood pressure". Em: *Journal of neurology* 254.6 (2007), p. 713. DOI: 10.1007/s00415-006-0238-4.
- [30] T. Jeerakathil et al. "Stroke risk profile predicts white matter hyperintensity volume". Em: *Stroke* 35.8 (2004), pp. 1857–1861. DOI: 10.1161/01.STR.0000135226.53499.85.
- [31] C. L. Carey et al. "Subcortical lacunes are associated with executive dysfunction in cognitively normal elderly". Em: *Stroke* 39.2 (2008), pp. 397–402. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.491795.
- [32] C. B. Wright et al. "White matter hyperintensities and subclinical infarction". Em: *Stroke* 39.3 (2008), pp. 800–805. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.484147.
- [33] G. Gold et al. "Cognitive consequences of thalamic, basal ganglia, and deep white matter lacunes in brain aging and dementia". Em: *Stroke* 36.6 (2005), pp. 1184–1188. DOI: 10.1161/01.STR.0000166052.89772.b5.
- [34] J. van Swieten et al. "Periventricular lesions in the white matter on magnetic resonance imaging in the elderly. A morphometric correlation with arteriolosclerosis and dilated perivascular spaces". Em: *Brain: a journal of neurology* 114 (1991), pp. 761–774. DOI: 10.1093/brain/114.2.761.
- [35] R Cumurciuc et al. "Dilation of Virchow-Robin spaces in CADASIL". Em: *European journal of neurology* 13.2 (2006), pp. 187–190. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2006.01113.x.

- [36] C. Enzinger et al. "Risk factors for progression of brain atrophy in aging Six-year follow-up of normal subjects". Em: *Neurology* 64.10 (2005), pp. 1704–1711. DOI: 10.1212/01.WNL.0000161871.83614.BB.
- [37] R. Liu et al. "A longitudinal study of brain morphometrics using quantitative magnetic resonance imaging and difference image analysis". Em: *NeuroImage* 20.1 (2003), pp. 22–33. DOI: 10.1016/S1053-8119(03)00219-2.
- [38] A. Nitkunan et al. "Multimodal MRI in Cerebral Small Vessel Disease". Em: *Stroke* 39.7 (2008), pp. 1999–2005. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.507475.
- [39] A. Viswanathan et al. "Impact of MRI markers in subcortical vascular dementia: A multi-modal analysis in CADASIL". Em: *Neurobiology of Aging* 31.9 (2010), pp. 1629–1636. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2008.09.001.
- [40] N Peters et al. "Brain volume changes in CADASIL A serial MRI study in pure subcortical ischemic vascular disease". Em: *Neurology* 66.10 (2006), pp. 1517–1522. DOI: 10.1212/01.wnl.0000216271.96364.50.
- [41] C. Westbrook, C. Kaut Roth e J. Talbot. *MRI in practice*. 4ª edição. Willey-Blackwell, 2011, p. 459. ISBN: 9788578110796. DOI: 10.1017/CB09781107415324.004.
- [42] P. Hagmann et al. "Understanding Diffusion MR Imaging Techniques : From Scalar Imaging to Diffusion-weighted Imaging to Diffusion Tensor Imaging and Beyond". Em: *RadioGraphics* (2006), pp. 205–224. DOI: 10.1148/rg.26si065510.
- [43] P. Mukherjee et al. "Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: Theoretic underpinnings". Em: *American Journal of Neuroradiology* 29.4 (2008), pp. 632–641. ISSN: 01956108. DOI: 10.3174/ajnr.A1051.
- [44] P. Gillam. *PMG Biology*. 2014. URL: pmgbiology.com/tag/membrane/ (acedido em 22/08/2017).
- [45] A. Einstein. *Investigations on the Theory of Brownian Motion*. New York: Dover, 1956.
- [46] D. Le Bihan. "Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI". Em: *International Congress Series* 1290 (2006), pp. 1–24. ISSN: 05315131. DOI: 10.1016/j.ics.2006.04.006.
- [47] D. K. Jones. "Studying connections in the living human brain with diffusion MRI". Em: *Cortex* 44.8 (2008), pp. 936–952. DOI: 10.1016/j.cortex.2008.05.002.
- [48] K.-D. Merboldt, W. Hänicke e J. Frahm. "Self-Diffusion NMR Imaging Using Stimulated Echoes". Em: *Magnetic Resonance* 64 (1985), pp. 479–486. DOI: 10.1016/0022-2364(85)90111-8.
- [49] P. C. Lauterbur. "Image Formation by Induced Local Interaction: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance". Em: *Nature* 242 (1973). DOI: 10.1038/242190a0.

- [50] D. G. Taylor e M. C. Bushell. "The spatial mapping of translational diffusion coefficients by the NMR imaging technique". Em: 345 (1985). DOI: 10.1088/0031-9155/30/4/009.
- [51] D. L. Bihan. "Molecular Diffusion, Tissue Microdynamics and Microstructure". Em: *NMR in Biomedicine* 8.7 (1996), pp. 375–386. DOI: 10.1002/nbm.1940080711.
- [52] A. Kumar, D. Welte e R. Ernst. "NMR Fourier Zeugmatography". Em: *Magnetic Resonance* 18 (1975), pp. 69–83. DOI: 10.1016/j.jmr.2011.09.019..
- [53] E. O. Stejskal e J. E. Tanner. "Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time Dependent Field Gradient". Em: 288 (1965). DOI: 10.1063/1.1695690.
- [54] D. McRobbie et al. *MRI From Picture to Proton*. 2ª edição. Cambridge University Press, 2006, pp. 342–348. ISBN: 9780521865272.
- [55] *DWI-Questions and Answers in MRI*. 2016. URL: <http://mriquestions.com/making-a-dw-image.html>.
- [56] P. E. Chen et al. "Acute Ischemic Stroke: Accuracy of Diffusion-weighted MR Imaging - Effects of b Value and Cerebrospinal Fluid Suppression". Em: *Radi* 238 (2006), pp. 232–239.
- [57] M. Moseley, Y Cohen e J Kucharczyk. "Diffusion weighted MR imaging of anisotropic water diffusion in cat central nervous system". Em: *Radiology* 176.2 (1990), pp. 439–446. DOI: doi/10.1148/radiology.176.2.2367658.
- [58] M. Doran et al. "Normal and Abnormal White Matter Tracts Shown by MR Imaging using Directional Diffusion Weighted Sequences". Em: *J Comput Assist Tomogr* 14.6 (1990), pp. 865–873. ISSN: 0363-8715. DOI: 10.1097/00004728-199011000-00001.
- [59] T. L. Chenevert, J. a. Brunberg e J. G. Pipe. "Anisotropic diffusion in human white matter: demonstration with MR techniques in vivo." Em: *Radiology* 177.2 (1990), pp. 401–405. ISSN: 0033-8419. DOI: 10.1148/radiology.177.2.2217776.
- [60] D. K. Jones. "Studying connections in the living human brain with diffusion MRI". Em: *Cortex* 44.8 (2008), pp. 936–952. ISSN: 00109452. DOI: 10.1016/j.cortex.2008.05.002.
- [61] T. Huisman. "Diffusion-weighted and diffusion tensor imaging of the brain, made easy". Em: *International Cancer Imaging Society* 10.October (2010), pp. 163–171. DOI: 10.1102/1470-7330.2010.9023.
- [62] J. Morelli et al. "An Image based Approach to Understanding the Physics of MR Artifacts". Em: *Radiographics* 31.3 (2011), pp. 849–867. DOI: 10.1148/rg.313105115.

- [63] D. Le Bihan, C. Poupon e A. Amadon. “Artifacts and Pitfalls in Diffusion MRI”. Em: *Magnetic Resonance Imaging* 24.3 (2006), pp. 478–488. DOI: 10.1002/jmri.20683.
- [64] P. Jezzard, A. S. Barnett e C. Pierpaoli. “Characterization of and Correction for Eddy Current Artifacts in Echo Planar Diffusion Imaging”. Em: *Magnetic Resonance in Medicine* 39.5 (1998), pp. 801–812. DOI: 10.1002/mrm.1910390518.
- [65] J. M. Soares et al. “A hitchhiker’s guide to diffusion tensor imaging”. Em: *Frontiers in neuroscience* 7 (2013), pp. 1–14. DOI: 10.3389/fnins.2013.00031.
- [66] C. E. Sexton et al. “A meta-analysis of diffusion tensor imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease”. Em: *Neurobiology of Aging* 32.12 (2011), 2322.e5–2322.e18. ISSN: 01974580. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.05.019.
- [67] S. M. Smith et al. “Tract-based spatial statistics: Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data”. Em: *NeuroImage* 31.4 (2006), pp. 1487–1505. ISSN: 10538119. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.02.024.
- [68] M. De Groot et al. “Improving alignment in Tract-based spatial statistics: Evaluation and optimization of image registration”. Em: *NeuroImage* 76 (2013), pp. 400–411. ISSN: 10538119. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2013.03.015.
- [69] M. Pasi et al. “White Matter Microstructural Damage on Diffusion Tensor Imaging in Cerebral Small Vessel Disease: Clinical Consequences”. Em: *International journal of geriatric psychiatry* 47.6 (2016), pp. 611–618. ISSN: 1099-1166 (Electronic). DOI: 10.1002/gps.4368.
- [70] A. L. Lyoubi-idrissi et al. “Diffusion magnetic resonance imaging in cerebral small vessel disease”. Em: *Revue Neurologique* 173.4 (2017), pp. 201–210. ISSN: 0035-3787. DOI: 10.1016/j.neurol.2017.03.005.
- [71] H Chabriat et al. “Clinical severity in CADASIL related to ultrastructural damage in white matter: in vivo study with diffusion tensor MRI.” Em: *Stroke; a journal of cerebral circulation* 30.12 (1999), pp. 2637–2643. ISSN: 0039-2499. DOI: 10.1161/01.STR.30.12.2637.
- [72] M. Holtmannspötter et al. “Diffusion magnetic resonance histograms as a surrogate marker and predictor of disease progression in CADASIL a two-year follow-up study”. Em: *Stroke* 36.12 (2005), pp. 2559–2565. ISSN: 00392499. DOI: 10.1161/01.STR.0000189696.70989.a4.
- [73] M. O’Sullivan et al. “Diffusion tensor imaging of thalamus correlates with cognition in CADASIL without dementia”. Em: *Neurology* 62.5 (2004), pp. 702–707. DOI: 10.1212/01.WNL.0000113760.72706.D2.

-
- [74] M O'Sullivan et al. "Normal-appearing white matter in ischemic leukoaraiosis: a diffusion tensor MRI study." Em: *Neurology* 57.12 (2001), pp. 2307–2310. ISSN: 0028-3878. DOI: 10.1212/WNL.57.12.2307.
 - [75] D. K. Jones et al. "Characterization of white matter damage in ischemic leukoaraiosis with diffusion tensor MRI." Em: *Stroke; a journal of cerebral circulation* 30.2 (1999), pp. 393–7. ISSN: 0039-2499. DOI: 10.1161/01.STR.30.2.393.
 - [76] A. J. Lawrence et al. "Mechanisms of Cognitive Impairment in Cerebral Small Vessel Disease: Multimodal MRI Results from the St George ' s Cognition and Neuroimaging in Stroke (SCANS) Study". Em: 8.4 (2013). DOI: 10.1371/journal.pone.0061014.
 - [77] M. O'Sullivan et al. "Diffusion tensor MRI correlates with executive dysfunction in patients with ischaemic leukoaraiosis". Em: *Neurol Neurosurg Psychiatry* (2004), pp. 441–447. DOI: 10.1136/jnnp.2003.014910.
 - [78] S. Ropele et al. "Quantitation of Brain Tissue Changes Associated With White Matter Hyperintensities by Diffusion-Weighted and Magnetization Transfer Imaging : The LADIS (Leukoaraiosis and Disability in the Elderly) Study". Em: *Magnetic Resonance Imaging* 29.2 (2009), pp. 268–274. DOI: 10.1002/jmri.21580.
 - [79] M Mascalschi et al. "Longitudinal evaluation of leukoaraiosis with whole brain ADC histograms". Em: *Neurology* 59.6 (2002), pp. 938–940. DOI: 10.1212/00006123-200206000-00038.
 - [80] J. Helenius et al. "Leukoaraiosis, Ischemic Stroke, and Normal White Matter on Diffusion-Weighted MRI". Em: *Stroke* 33.1 (2002), pp. 45–50. DOI: 10.1161/01.STR.33.1.45.
 - [81] H. Jokinen et al. "Diffusion Changes Predict Cognitive and Functional Outcome: The LADIS Study". Em: *Annals of Neurology* 73.5 (2013), pp. 576–583. DOI: 10.1002/ana.23802.
 - [82] Akoudad et al. "Cerebral microbleeds are related to loss of white matter structural integrity". Em: *Neurology* 81.22 (2013), pp. 1930–1937. DOI: 10.1212/01.wnl.0000436609.20587.65.
 - [83] E. Jouvent et al. "Brain Atrophy Is Related to Lacunar Lesions and Tissue Microstructural Changes in CADASIL". Em: *Stroke* (2007). DOI: 10.1161/STROKEAHA.106.478263.
 - [84] Q. Xu et al. "Diffusion Tensor Imaging Changes Correlate with Cognition Better than Conventional MRI findings in Patients with Subcortical Ischemic Vascular Disease". Em: *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 30.4 (2010), pp. 317–326. DOI: 10.1159/000320491.

- [85] R. Schmidt et al. "Diffusion-Weighted Imaging and Cognition in the Leukoariosis and Disability in the Elderly Study". Em: *Stroke* 30.4 (2010), e402–408. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.576629.
- [86] A. G. W. van Norden et al. "Diffusion tensor imaging and cognition in cerebral small vessel disease The RUN DMC study". Em: *BBA - Molecular Basis of Disease* 1822.3 (2012), pp. 401–407. ISSN: 0925-4439. DOI: 10.1016/j.bbadis.2011.04.008.
- [87] M O'Sullivan et al. "Normal-appearing white matter in ischemic leukoaraiosis: A diffusion tensor MRI study". Em: *Neurology* 57.12 (2001), pp. 2307–2310.
- [88] M. O'Sullivan et al. "Damage within a network of white matter regions underlies executive dysfunction in CADASIL". Em: *Neurology* 65.10 (2005), pp. 1584–1590. ISSN: 00283878. DOI: 10.1212/01.wnl.0000184480.07394.fb.
- [89] A. G. W. van Norden et al. "Diffusion Tensor Imaging of the Hippocampus and verbal memory performance: The RUN DMC Study". Em: *Humam Brain Mapping* 33 (2012), pp. 542–551. DOI: 10.1002/hbm.21231.
- [90] A. J. Lawrence et al. "Structural network efficiency is associated with cognitive impairment in small-vessel disease". Em: *Neurology* 83.4 (2014), pp. 304–311. DOI: 10.1212/WNL.0000000000000612.
- [91] H. J. Kim et al. "Effects of Amyloid and Small Vessel Disease on White Matter Network Disruption". Em: *Alzheimer's Disease* 44 (2015), pp. 963–975. DOI: 10.3233/JAD-141623.
- [92] M. Pasi et al. "White Matter Microstructural Damage in Small Vessel Disease Is Associated with Montreal Cognitive Assessment But Not with Mini Mental State Examination Performances". Em: *Stroke* (2015). DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.007553.
- [93] N Molko et al. "Monitoring Disease Progression in CADASIL With Diffusion Magnetic Resonance Imaging: A Study With Whole Brain Histogram Analysis". Em: *Stroke* 33.12 (2002), pp. 2902–2908. ISSN: 0039-2499. DOI: 10.1161/01.STR.0000041681.25514.22.
- [94] M O'Sullivan et al. "Damage within a network of white matter regions underlies executive dysfunction in CADASIL". Em: *American Academy of Neurology* 65.10 (2005), pp. 1584–1590. DOI: 10.1212/01.wnl.0000184480.07394.fb.
- [95] M. Mascalchi et al. "Diffusion Tensor Imaging to Map Brain Microstructural Changes in CADASIL". Em: *American Society of Neuroimaging* 27 (2016), pp. 85–91. DOI: 10.1111/jon.12374.
- [96] M. P. Lawton e E. M. Brody. "Assessment of Older People : Self-Maintaining and Instrumental Activities of Daily Living". Em: *Nursing Research* 19.3 (1969), pp. 179–186. DOI: 10.1093/geront/9.3_Part_1.179.

- [97] F Buffon et al. "Cognitive profile in CADASIL". Em: *Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 27.2 (2006), pp. 175–180. DOI: 10.1136/jnnp.2005.068726.
- [98] R. Retain. "The relation of the trail making test to organic brain damage". Em: *J Consult Psychol* 19.5 (1995), pp. 393–4. DOI: 10.1037/h0044509.
- [99] A. R. Jensen e W. D. Rohwer Jr. "The Stroop color-word test: a review". Em: *Acta psychologica* 25 (1966), pp. 36–93. DOI: 10.3389/fpsyg.2017.00557.
- [100] B. Boone et al. "Neuropsychological Correlates of White-Matter Lesions in Healthy Elderly Subjects A Threshold Effect". Em: *Archives of Neurology* 49.5 (1992), pp. 549–554. DOI: 10.1001/archneur.1992.00530290141024.
- [101] M.-s. Shin et al. "Clinical and empirical applications of the Rey – Osterrieth Complex Figure Test". Em: *Nature Protocols* 1.2 (2009), pp. 892–899. DOI: 10.1038/nprot.2006.115.
- [102] A. Graça. "Segmentation of white matter lesions from multimodal MRI in small vessel disease". Tese de Mestrado. Instituto Superior Técnico, 2016.
- [103] B. B. Avants et al. "ANTS : Advanced Open-Source Tools for Normalization And Neuroanatomy". Em: *HeanetLe* 10 (2009), pp. 1–11.
- [104] V. Wycoco, M. Shroff e S. Sudhakar. "White Matter Anatomy What the Radiologist Needs to Know". Em: *Neuroimaging Clinics* 23.2 (2013), pp. 197–216. ISSN: 1052-5149. DOI: 10.1016/j.nic.2012.12.002.
- [105] Digital Dictionary. *Outlier definition*. 2017. URL: <http://www.dictionary.com/browse/outlier>.
- [106] B. Liu, T. Zhu e J. Zhong. "Comparison of quality control software tools for diffusion tensor imaging". Em: *Magnetic Resonance Imaging* 33.3 (2015), pp. 276–285. ISSN: 0730-725X. DOI: 10.1016/j.mri.2014.10.011.
- [107] H. Jiang et al. "DtiStudio : Resource program for diffusion tensor computation and fiber bundle tracking". Em: *Computer methods and programs in biomedicine* 81.2 (2006), pp. 106–116. DOI: 10.1016/j.cmpb.2005.08.004.
- [108] Z. Liu et al. "Quality Control of diffusion Weighted Image". Em: *Proceedings of SPIE—the International Society for Optical Engineering* 7628 (2010), 76280J. DOI: 10.1117/12.844748.Quality.
- [109] C. Pierpaoli et al. "TORTOISE: an integrated software package for processing of diffusion MRI data". Em: *ISMRM 18th annual meeting, Stockholm, Sweden* (2010), p. 1597.
- [110] Y. Li et al. "Image Corruption Detection in Diffusion Tensor Imaging for Post-Processing and Real-Time Monitoring". Em: *PLoS ONE* 8.10 (2013). DOI: 10.1371/journal.pone.0049764.

- [111] L.-C. Chang, D. K. Jones e C. Pierpaoli. “RESTORE : Robust Estimation of Tensors by Outlier Rejection”. Em: *Magnetic Resonance in Medicine* 53.3 (2005), pp. 1088–1095. DOI: 10.1002/mrm.20426.
- [112] J. L. R. Andersson e M. S. Graham. “Incorporating outlier detection and replacement into a non-parametric framework for movement and distortion correction of diffusion MR images”. Em: *NeuroImage* 141 (2016), pp. 556–572. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2016.06.058.
- [113] J. L. R. Andersson, S. Skare e J. Ashburner. “How to correct susceptibility distortions in spin-echo echo-planar images: application to diffusion tensor imaging”. Em: *NeuroImage* 20.2 (2003), pp. 870–888. DOI: 10.1016/S1053-8119(03)00336-7.
- [114] J. L. R. Andersson e S. N. Sotiropoulos. “An integrated approach to correction for off-resonance effects and subject movement in diffusion MR imaging”. Em: *NeuroImage* 125 (2016), pp. 1063–1078. ISSN: 1053-8119. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2015.10.019.
- [115] J. Salvia, J. Ysseldyke e S. Witmer. *Assessment: In special and inclusive education*. Cengage Learning, 2012, p. 43.
- [116] P. Basser, J. Mattiello e D. Le Bihan. “Estimation of the Effective Self-Diffusion Tensor from the NMR Spin Echo”. Em: *Magnetic Resonance* 103.3 (1994), pp. 247–254. DOI: 10.1006/jmrb.1994.1037.
- [117] S. M. Smith et al. “Tract-based spatial statistics : Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data”. Em: 31 (2006), pp. 1487–1505. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.02.024.
- [118] A. M. Winkler et al. “Permutation inference for the general linear model”. Em: *NeuroImage* 92 (2014), pp. 381–397. ISSN: 1053-8119. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2014.01.060.
- [119] Y. Zhou et al. “A primary study of diffusion tensor imaging-based histogram analysis in vascular cognitive impairment with no dementia”. Em: *Clinical Neurology and Neurosurgery* 113.2 (2011), pp. 92–97. ISSN: 0303-8467. DOI: 10.1016/j.clineuro.2010.09.007.
- [120] P. S. Tofts e G. R. Davies. “Chapter 18 - Histograms Measuring Subtle Diffuse”. Em: *Quantitative MRI of the Brain*. 2003, pp. 581–609. ISBN: 0470847212.
- [121] I. D. Croall et al. “Using DTI to assess white matter microstructure in cerebral small vessel disease (SVD) in multicentre studies”. Em: *Clinical Science* 131 (2017), pp. 1361–1373. DOI: 10.1042/CS20170146.
- [122] O. Naggara et al. “Diffusion tensor imaging in early Alzheimer ’ s disease”. Em: *Psychiatry Research Neuroimaging* 146.3 (2006), pp. 243–249. DOI: 10.1016/j.psychresns.2006.01.005.

-
- [123] T.-f. Chen et al. "Diffusion tensor changes in patients with amnesic mild cognitive impairment and various dementias". Em: *Psychiatry Research: Neuroimaging* 173.1 (2009), pp. 15–21. ISSN: 0925-4927. DOI: 10.1016/j.pscychresns.2008.09.002.
 - [124] M. Bozzali e A. Cherubini. "Diffusion tensor MRI to investigate dementias : a brief review". Em: *Magnetic Resonance Imaging* 25.6 (2007), pp. 969–977. DOI: 10.1016/j.mri.2007.03.017.
 - [125] E. R. Girden. *ANOVA: Repeated measures*. Sage, 1992.
 - [126] N. M. Razali e Y. B. Wah. "Power comparisons of shapiro-wilk, kolmogorov-smirnov, lilliefors and anderson-darling tests". Em: *Journal of statistical modeling and analytics* 2.1 (2011), pp. 21–33.
 - [127] G. Wilkinson e C. Rogers. "Symbolic description of factorial models for analysis of variance". Em: *Applied Statistics* 22.3 (1973), pp. 392–399. DOI: 10.2307/2346786.
 - [128] T Hastis e D Pregibon. "Statistical Models in S". Em: *Generalized Linear Models*. Ed. por J Chambers e T Hastie. Wadsworth & Brooks/Cole., 1992. Cap. Chapter 6. ISBN: 978-3-7908-0475-1.
 - [129] R. A. Charlton et al. "White matter damage on diffusion tensor imaging correlates with age-related cognitive decline". Em: *Neurology* 66.2 (2006), pp. 217–222. DOI: 10.1212/01.wnl.0000194256.15247.83.
 - [130] N. Bolandzadeh et al. "The association between cognitive function and white matter lesion location in older adults : a systematic review". Em: *BMC Neurology* 12.1 (2012), p. 1. ISSN: BMC Neurology. DOI: 10.1186/1471-2377-12-126.
 - [131] S. H. Jang e Y. S. Seo. "Injuries of neural tracts in a patient with CADASIL : a diffusion tensor imaging study". Em: *BMC Neurology* 15.1 (2015), p. 176. ISSN: 1471-2377. DOI: 10.1186/s12883-015-0434-x.
 - [132] N. D. Prins et al. "Cerebral small-vessel disease and decline in information processing speed , executive function and memory". Em: *Brain* 128.9 (2005), pp. 2034–2041. DOI: 10.1093/brain/awh553.
 - [133] A. M. Tuladhar et al. "Clinical White matter integrity in small vessel disease is related to cognition". Em: *NeuroImage: Clinical* 7 (2015), pp. 518–524. ISSN: 2213-1582. DOI: 10.1016/j.nicl.2015.02.003.
 - [134] A. Metoki et al. "Neuropsychologia Mnemonic function in small vessel disease and associations with white matter tract microstructure". Em: *Neuropsychologia* 104 (2017), pp. 1–7. ISSN: 0028-3932. DOI: 10.1016/j.neuropsychologia.2017.07.027.
 - [135] J. M. Biesbroek, N. A. Weaver e G. J. Biessels. "Lesion location and cognitive impact of cerebral small vessel disease". Em: *Clinical Science* 131.8 (2017), pp. 715–728. DOI: 10.1042/CS20160452.

- [136] Y. D. Reijmer et al. “Disruption of cerebral networks and cognitive impairment in Alzheimer disease”. Em: *American Academy of Neurology* 80.15 (2013), pp. 1370–1377. DOI: 0.1212/WNL.0b013e31828c2ee5.
- [137] A. M. Tuladhar et al. “Structural Network Connectivity and Cognition in Cerebral Small Vessel Disease”. Em: *Human Brain Mapping* 37.1 (2016), pp. 300–310. DOI: 10.1002/hbm.23032.
- [138] A. M. Tuladhar et al. “Structural network efficiency predicts conversion to dementia”. Em: *Neurology* 86.12 (2016), pp. 1112–1119. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002502.
- [139] I. van Uden et al. “White Matter Integrity and Depressive Symptoms in Cerebral Small Vessel Disease : The RUN DMC Study”. Em: *The American Journal of Geriatric Psychiatry* 23.5 (2015), pp. 525–535. ISSN: 1064-7481. DOI: 10.1016/j.jagp.2014.07.002.
- [140] M. de Groot et al. “Changes in normal-appearing white matter precede development of white matter lesions”. Em: *Stroke* 44.4 (2013), pp. 1037–1042. DOI: 10.1161/STROKEAHA.112.680223.
- [141] C. Metzler-Baddeley et al. “How and how not to correct for CSF-contamination in diffusion MRI”. Em: *NeuroImage* 59.2 (2012), pp. 1394–1403. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.08.043.
- [142] C. Metzler-Baddeley, D. K. Jones e M. J. O’sullivan. “CSF contamination contributes to apparent microstructural alterations in mild cognitive impairment”. Em: *NeuroImage* 92 (2014), pp. 27–35. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2014.01.031.
- [143] S. Grieve et al. “Cognitive aging, executive function, and fractional anisotropy: a diffusion tensor MR imaging study”. Em: *American Journal of Neuroradiology* 28.2 (2007), pp. 226–235.
- [144] F. De Leeuw et al. “Prevalence of cerebral white matter lesions in elderly people: a population based magnetic resonance imaging study. The Rotterdam Scan Study”. Em: *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 70.1 (2001), pp. 9–14. DOI: 10.1136/jnnp.70.1.9.

A | Apêndice A

A tabela A.1 contém uma listagem de todos os sujeitos em estudo nesta tese organizada por grupos. Os dados relativos à idade e gênero, bem como a direção de codificação de fase da sequência DWI são também indicados na tabela.

Tabela A.1: Dados relativos à idade, género, grupo e direção de codificação de fase da sequência DWI para cada sujeito

Grupo	Sujeito	Idade	Género	Direção de codificação de fase da sequência DWI
CADASIL	S40	36	M	A>>P
CADASIL	S38	44	M	A>>P
CADASIL	S34	55	F	A>>P
CADASIL	S26	61	F	A>>P
CADASIL	S42	34	F	A>>P
CADASIL	S27	53	F	A>>P
SVD	S31	37	F	A>>P
SVD	S30	47	M	A>>P
SVD	S21	48	F	A>>P
SVD	S41	52	F	A>>P
SVD	S22	55	F	A>>P
SVD	S25	56	F	A>>P
SVD	S24	57	F	A>>P
SVD	S23	66	F	A>>P
SVD	S43	49	F	A>>P
SVD	S29	50	M	A>>P
SVD	S39	55	F	A>>P
CONTROLO	S36	57	M	A>>P
CONTROLO	S37	54	F	A>>P
CONTROLO	S32	55	F	A>>P
CONTROLO	S35	55	F	A>>P
CONTROLO	S33	57	M	A>>P
CONTROLO	S44	60	M	A>>P
CONTROLO	S45	54	F	A>>P e P>>A
CONTROLO	S46	52	M	A>>P

A>>P (Anterior-Posterior) P>>A (Posterior-Anterior)

B | Apêndice B

Nas figuras B.1 e B.2 ilustra-se o processo de extração de métricas dos histogramas de FA e MD para um Controlo saudável e um doente com sVD.

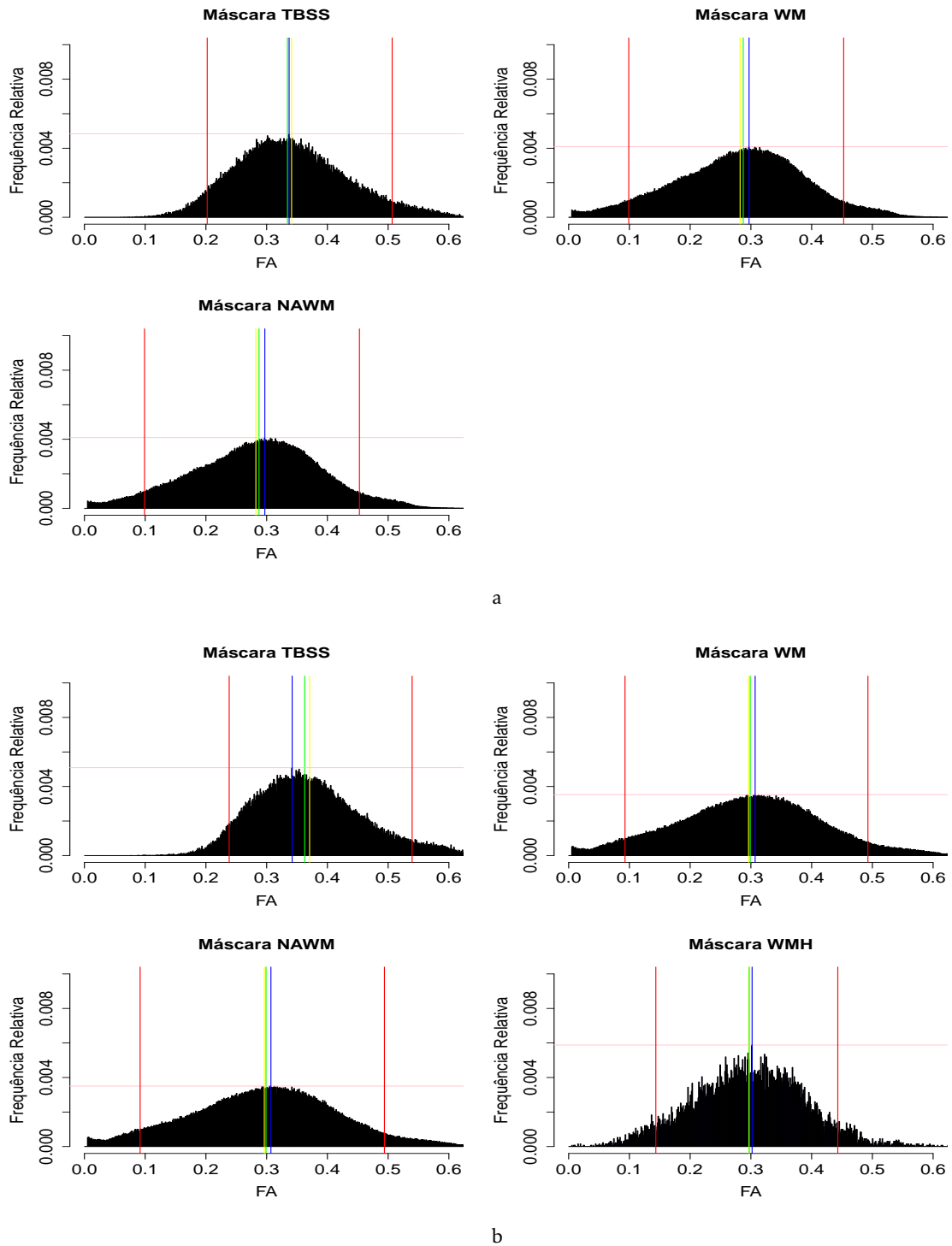


Figura B.1: Extração de métricas dos histogramas de FA. (a) Histograma de FA de um indivíduo saudável; (b) Histograma de FA de um doente com sSVD. Para as máscaras TBSS, WM, NAWM e WMH extraiu-se os valores da média (amarelo), mediana (verde), altura do pico (rosa), largura entre o 5° e 95° (vermelho) e valor do pico (azul).

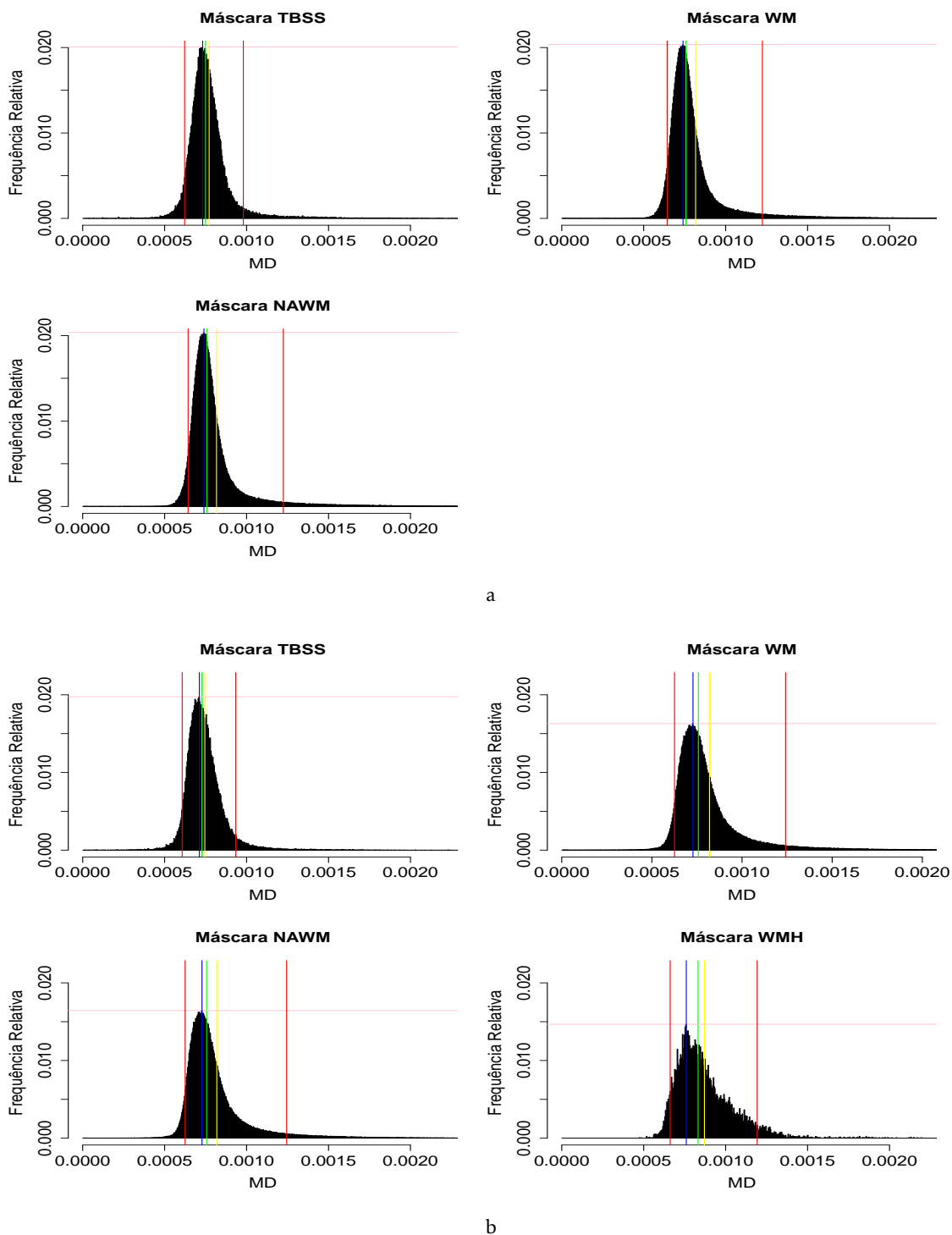


Figura B.2: Extração de métricas dos histogramas de MD. (a) Histograma de MD (mm^2s^{-1}) de um indivíduo saudável; (b) Histograma de MD (mm^2s^{-1}) de um doente com sSVD. Para as máscaras TBSS, WM, NAWM e WMH extraíu-se os valores da média (amarelo), mediana (verde), altura do pico (rosa), largura entre o 5° e 95° (vermelho) e valor do pico (azul).